





ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. M. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

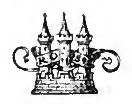
J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

FÜNFUNDSECHZIGSTER BAND

Mit 2 Tafeln und 40 Abbildungen



MÜNCHEN UND BERLIN

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG

1908

Inhalt.

Eine Methode zur Bestimmung von kleinsten Mengen Kohlenstoff, insbesondere des Kohlenstoffs der organischen Substanzen im Wasser.

Von

Dr. med. **Nikolaus Popowsky.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Friedrich-Wilhelms-Universität. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Max Rubner.)

Es gibt bis jetzt keine portative Methode zur Bestimmung der Menge der organischen Substanzen im Wasser. Die Menge des organischen Kohlenstoffs im Wasser kann mittels Elementaranalyse im Trockenrückstand ermittelt werden, doch hat diese Methode wegen ihrer Umständlichkeit keinen Eingang in die hygienische Methodik finden können. Man begnügt sich im allgemeinen damit, den Grad der Oxydierbarkeit des Wassers mittels übermangansauren Kalis zu bestimmen.

Ganz abgesehen davon, dafs sich manche Substanzen auf diese Art entweder gar nicht oder nur zum Teil verbrennen lassen, kann dabei keine Rede von absoluten Werten sein. Das Oxydationsvermögen steht gewifs in einer Beziehung zur Menge der organischen Substanzen, kann aber nicht über deren absolute Menge Aufschlufs geben.

Nur eine Methode, welche auf nassem Wege die Verbrennung zu Ende zu führen erlaubte und den durch völlige Oxydation zu Kohlensäure verbrannten Kohlenstoff quantitativ bestimmen liefse, würde allen Anforderungen entsprechen.

Die Brüder Rogers und besonders Brunner führten die Methode zur Bestimmung des Kohlenstoffs in organischen Substanzen durch Verbrennung mittels Kalium bichromicum und Schwefelsäure ein.

Okada machte einen Schritt vorwärts, indem er die Kohlensäure nicht auf gewichtsanalytischem Wege, wie es vor ihm gehandhabt wurde, sondern durch Auffangen in titriertem Barytwasser nach Pettenkofers Vorgang bestimmte. Scholz (Zentralbl. für innere Medizin 1897, Nr. 15 u. 16) endlich vervollkommnete die Methode und wendete sie mit Erfolg auf die Harnanalyse an.

Die Methode besteht darin, dafs die aus dem Verbrennungskolben stammende Kohlensäure erstens einen Kugelkühler passiert, wird dann im Kalziumchloridrohr getrocknet, und geht schliefslich durch ein glühendes Verbrennungsrohr, um in Barytwasser aufgefangen zu werden. Die erste auf 400° erhitzte Hälfte des Verbrennungsrohres ist mit CuO gefüllt, um die nicht vollständig oxydierten organischen Verbindungen zu CO_2 zu verbrennen. Die zweite Hälfte ist mit Bleihyperoxyd gefüllt, wird nicht über 150° erhitzt und dient zur Bindung der anorganischen Säuren. Durch den ganzen Apparat wird mittels einer Wasserstrahlpumpe vor und während der Verbrennung kohlensäurefreie Luft durchgesogen.

Die aufgefangene Kohlensäure wird titrimetrisch mit Oxalsäure bestimmt. Der Apparat und das Verfahren sind genau beschrieben in der erwähnten Arbeit von Scholz.

Bei der Anwendung für die Harnanalyse gibt dieses Verfahren recht brauchbare Resultate, da der absolute Fehler nach unseren Bestimmungen nicht über 0,002 g Kohlenstoffs steigt.

	Berechnet	Differenz
0,331 Harnstoff gaben 0,0674 mg C. . . .	0,0662	+ 0,0012
0,0681	—	+ 0,0019
0,0680	—	+ 0,0018
0,02 Harnstoff gaben 0,0053 mg C. . . .	0,004	+ 0,0013
0,0055	—	+ 0,0015
0,0049	—	+ 0,0009

Für die Wasseranalyse dürfte dieser Fehler jedoch noch zu hoch sein.

Auf Anregung des Herrn Geheimrats Prof. Dr. Rubner habe ich versucht, für die Bestimmung kleinster Mengen von durch Kalibichromat und Schwefelsäure zu Kohlensäure verbrannten Kohlenstoffs das Wolpertsche Prinzip anzuwenden. Eine Phenolphthalein enthaltende Sodalösung entfärbt sich, sobald durch Einleiten von Kohlensäure das Natriumkarbonat in Bikarbonat umgewandelt ist. Die Rotfärbung nimmt allmählich ab und ist bei gegebenen Mengen von Natriumkarbonat und Phenolphthalein streng gesetzmäfsig, jedoch nicht proportional dem Ab- bzw. Zunehmen der Ingredienten. Die Intensität der Färbung ist bedingt durch das Gleichgewicht, welches stattfindet einerseits zwischen Säure-Ionen des Indikators, anderseits der Menge der auf das Phenolphthalein einwirkenden NaOH-Ionen.

Eine verdünnte Sodalösung ist in NaOH und $NaHCO_3$ dissoziiert und reagiert deswegen alkalisch auf Phenolphthalein. Beim Einleiten von Kohlensäure nimmt die Menge NaOH ab, und die Lösung entfärbt sich.

Aus praktischen Gründen wurde eine Sodalösung hergestellt, von der 10 ccm 1 mg Kohlensäure binden können.

Diese Lösung wurde mit einer gewissen Menge Phenolphthalein versetzt und die Abnahme der Intensität der Färbung kolorimetrisch bestimmt.

Die Ablesungen wurden mittels des Grofseschen Polarisationskolorimeters ausgeführt, jedoch mit Ausschaltung der Quarzplatte. Der Apparat blieb auf den Nullpunkt eingestellt, und die gleiche Intensität der Färbung der zu vergleichenden Lösungen wurde nicht durch Drehung des Nikols, sondern durch Abfliefsenlassen aus den Zylindern erzielt.

Zur Herstellung der Lösung ist reine Soda und umkristallisiertes Phenolphthalein erforderlich.

Die Soda kann aus Natriumbikarbonat hergestellt werden, indem man letzteres in einer Platinschale so lange ausglüht, bis die Hauptmenge geschmolzen ist. Das Phenolphthalein kann zweckmäfsig auf folgende Weise gereinigt werden. In einem

Becherglase wird Wasser in konzentrierte alkoholische Phenolphthaleinlösung gegossen, bis ein starker Niederschlag entstanden ist. Das Gemisch wird nun auf dem Drahtnetze erhitzt, bis die Flüssigkeit klar geworden ist. Beim Erkalten der Flüssigkeit kristallisiert das Phenolphthalein sehr schön aus, wird abgenutscht, mit destilliertem Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

2,4091 g des wie oben beschrieben hergestellten Natriumkarbonats werden in einen Meſskolben gebracht und in destilliertem Wasser, welches durch mindestens zweistündiges Sieden kohlensäurefrei gemacht worden ist, aufgelöst.

Es wird nunmehr 0,01 g Phenolphthalein in einer Porzellanschale in einigen Kubikzentimetern Alkohol gelöst und mit kohlensäurefreiem Wasser in einen Meſskolben gespült. Die Lösung wird alsdann in einer Flasche, wie sie für die Aufbewahrung der Pettenkoferschen Bariumhydratlösung gebraucht wird, auf 10 l gebracht.

Die Intensität der Färbung dieser Lösung ist von der Menge des in Form von Soda vorhandenen Natriumhydrats abhängig. Wir setzen diese Menge gleich 100%, wenn alles Natriumhydrat in Form von Soda vorhanden ist, und gleich 0%, wenn durch Einleiten von Kohlensäure alles in Natriumbikarbonat umgewandelt ist. Die Lösung ist so hergestellt, daſs ein Prozent Soda 0,01 mg CO_2 entspricht. Vergleicht man nun kolorimetrisch die Lösung, welche 100% Soda enthält mit einer, in die man CO_2 eingeleitet hat, so stehen die Säulenhöhen bei gleicher Färbungsintensität in einer gewissen Beziehung zu dem Prozentgehalt an Soda in beiden Lösungen. Und umgekehrt, aus dem Quotienten aus der Säulenhöhe kann man die Menge der Sodaprozente erfahren, wenn einmal das Gesetz der Färbungsintensitätsänderung bekannt ist.

Das Gesetz wird am einfachsten in einer Kurve dargestellt. Diese wurde folgenderweise bestimmt. Die Sodalösung wurde mit einer Natriumbikarbonatlösung, welche genau dieselbe Menge NaOH und Phenolphthalein wie die Grundlösung enthielt, verdünnt, so daſs der Gehalt an Soda beliebig verändert werden konnte, und alsdann mit der ursprünglichen Sodalösung kolorimetrisch verglichen.

Das Verhältnis ist gleich 1, wenn man zwei Lösungen, welche 100 Prozente Soda enthalten, vergleicht, und es ist gleich Unendlich, wenn zwei Lösungen verglichen werden, von welchen die eine 100%, die andere 0% stark ist.

Zur Festlegung der Kurve wurden drei Reihen von Bestimmungen im Abstand von je 5 Prozenten Soda mit je 10 Ablesungen ausgeführt. Die Kurve (Fig. 1) ist in einem System von rechtwinkligen Koordinaten dargestellt. Auf der Abszisse sind die Quotienten an den Säulenhöhen der Grund- und der veränderten Sodalösung angebracht, die Ordinate gibt Aufschlufs über den Gehalt der in der veränderten Lösung vorhandenen Menge von Sodaprozenten.

Es braucht kaum erwähnt zu werden, dafs dieser Quotient um so kleiner ist, je mehr Sodaprozente unverändert vorhanden sind und umgekehrt.

Die kolorimetrischen Ablesungen können auch mit blofsem Auge gemacht werden. Sie sind am schärfsten zwischen den Teilungen 70—30 des Zylinders, welcher die Grundlösung enthält. Im Abstand zwischen 70 und 30 können bequem 10 Ablesungen gemacht werden und so viele sind erforderlich; wenn man sich eingeübt hat, dürften 5 Ablesungen ausreichen.

Die Verbrennung wurde im Scholtzschen Apparate ausgeführt. Es wurden zur Kohlensäureabsorption vier Pettenkofersche Röhren verwendet, je zwei zu 240 ccm und zu 90 ccm. Nach vollendeter Verbrennung werden die ersten zwei Röhren einzeln untersucht, dagegen können die Lösungen aus den zwei letzten vorsichtig zusammen in eine dichtschliefsende Flasche (Patentflasche) gegossen werden, welche vorher durch Schütteln mit der Grundsodalösung kohlensäurefrei gemacht worden ist.

Es ist am Schlufs dieser Arbeit eine Tabelle angeschlossen, aus welcher die Menge der von je 10 ccm der Lösung aufgefangenen Kohlensäure direkt abgelesen werden kann.

Man berechne die Säulenhöhenverhältnisse bis auf drei Dezimalstellen. Die entsprechenden Werte sind alsdann durch Interpolation zu erhalten.

Führt man den Versuch so aus, wie oben angegeben, so mufs die Kohlensäuremenge in den ersten zwei Röhren mit je 24 multipliziert werden, in den zwei letzten, wenn sie zusammengegossen worden waren, mit 18. Aus der Menge der Kohlensäure ist durch Multiplizieren mit 0,2727 der Kohlenstoff zu berechnen.

Ein Fehler, der bei dieser Methode in Betracht kommt, rührt daher, dafs die Grundsodalösung gewöhnlich keine 100 Prozente Soda enthält. Beim Auflösen und Verdünnen wird unvermeidlich Kohlensäure gebunden.

Die Stärke der Grundlösung, mit der man die Versuche auszuführen hat, mufs bei jeder Herstellung bestimmt und dann mindestens alle acht Tage wiederholt werden. Die Bestimmung kann auf allgemeinem, in der anorganischen Chemie anwendbarem Wege ausgeführt werden, doch ist die Lösung zu verdünnt und der Umschlag beim Titrieren nicht scharf genug. Aufserdem ist das Verfahren zu umständlich.

Die Stärke der Grundlösung kann mit Leichtigkeit kolorimetrisch bestimmt werden.

Man nehme zu diesem Zwecke 100 ccm der Sodalösung, bringe sie in einen Rundkolben und versetze sie mit 100 ccm destilliertem Wasser. Die verdünnte Lösung wird alsdann auf dem Drahtnetze bis etwa auf 90 ccm eingedampft, rasch abgekühlt und mit ausgekochtem Wasser (welches gleichzeitig ausgekocht wird) genau auf die ursprünglichen 100 ccm gebracht. Die Grundlösung wird nun mit dieser nochmals ausgekochten Portion kolorimetrisch verglichen. Die Grundlösung enthält so viel Sodaprozente weniger wie 100%, als Hundertstel Milligramm Kohlensäure nach der Tabelle nachgewiesen werden können. Es sei hier darauf aufmerksam gemacht, dafs die kolorimetrisch zu vergleichenden Lösungen genau dieselbe Temperatur haben müssen, denn sonst bekommt man beträchtliche Fehler.

Hat man auf diese Weise festgestellt, dafs die Grundlösung keine 100% sondern $(100 - a)$% enthält, so sind die Werte, welche man nach der Verbrennung für den Kohlenstoff bzw. die Kohlensäure erhalten hat, mit $\frac{100 - a}{100}$ zu multiplizieren.

Dieses ist darin begründet, dafs man, ohne nennenswerte Fehler zu machen, annehmen kann, dafs sich eine etwa 90% starke Sodalösung in bezug auf die Farbe nach dem gleichen Gesetz wie die 100% starke Lösung verändert.

Die untere Punktierlinie auf Fig. 1 ist die Projektion einer Kurve für die gleiche Menge Phenolphthalein und die doppelte Menge Sodaprozente. Diese Kurve ist steiler, doch unterscheidet sie sich von unserer Kurve in maximo (etwa in der Mitte) um

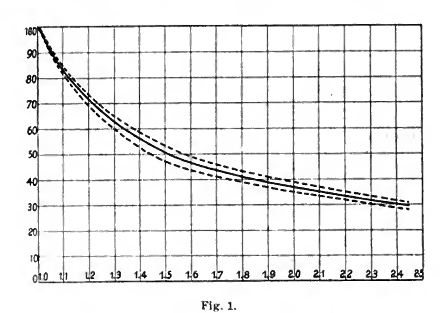


Fig. 1.

4%. Für einen Unterschied von 10% (mehr kommt in der Praxis nicht vor) dürfte der Kurvenunterschied und damit der Fehler beim Proportionalberechnen nicht über 0,25% steigen.

Je kleiner die Säulendifferenz ist, um so kleiner wird der Fehler bei der Berechnung. Im allgemeinen (bei 90% starker Grundlösung) dürfte er absolut nicht mehr als 0,03 mg Kohlenstoff ausmachen.

Die obere Punktierlinie (Fig. 1) stellt die Kurve bei demselben Gehalt an Na_2CO_3 und doppelter Menge Phenolphthalein vor. Man sieht, dafs diese Kurve flacher ist.

Die Grundsodalösung ist so schwach, dafs sie sich nur sehr langsam an der Luft verändert. In einem kolorimetrischen Zylinder verändert sie sich in 24 Stunden nur um wenige Prozente und zwar proportional der Stärke, so dafs das kolori-

metrische Verhältnis zwischen zwei offenstehenden verschieden starken Sodalösungen tagelang bestehen bleibt. Der Fehler, welcher durch das Füllen der Röhren und das Ausgiefsen bedingt ist, ist minimal. Doch ist die Kohlensäureabsorption in den Pettenkoferschen Röhren eine nahezu absolute.

Bei der oben angeführten Zahl und Reihenfolge der Röhren können mit Sicherheit bis zu 25 mg Kohlensäure gebunden und bestimmt werden.

Es kommt weiter sehr auf die Geschwindigkeit an, mit der die Gasblasen die Lösung passieren. Die Schnelligkeit darf keine zu grofse sein, die Gasblasen müssen bequem gezählt werden können. Die Geschwindigkeit war eine richtige, wenn mindestens 50% der insgesamt gefundenen Kohlensäure im ersten Rohre absorbiert worden sind. Zu den Fehlerquellen ist vielleicht noch das Ablesen im Kolorimeter und die empirisch aufgebaute Kurve zu rechnen.

Die gesamten Fehler, die bei einer richtig ausgeführten Bestimmung gemacht werden, und die, beiläufig bemerkt, sich zum Teil ausgleichen, sind im Durchschnitt ziemlich klein, wie folgende Analysenreihe zeigt:

	Berechnet mg	Differenz mg
0,02 Harnstoff verbrannt gaben 4,06 mg C. . .	4,0	+ 0,06
4,08	—	+ 0,08
4,10		+ 0,10
4,19		+ 0,19
4,02		+ 0,02
3,94		— 0,06
4,06		+ 0,06
4,12		+ 0,12
0,015 Harnstoff gaben 3,04	3,0	+ 0,04
3,09		+ 0,09
0,01 Harnstoff gaben 2,09	2,0	+ 0,09
2,10		+ 0,10
0,03 Harnstoff gaben 5,93	6,0	— 0,07
6,08		+ 0,08

Der maximale absolute Fehler steigt also nicht über 0,19 mg C. Im Durchschnitt ist er jedoch nicht gröfser wie 0,1 mg, was bei der kleinen Menge C etwa 2,5 % ausmachen würde.

Aufser der kolorimetrischen Methode haben wir ein anderes Verfahren ausgearbeitet, welches allerdings bei weitem nicht so genaue Resultate zu geben vermag, jedoch aber für manche Zwecke wohl als ausreichend genau angesehen werden kann.

Dieser zweiten Methode ist die Titration mittels kohlensäurehaltigem Wasser zu Grunde gelegt.

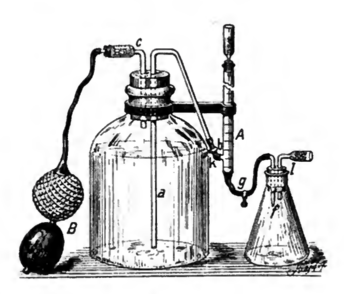


Fig. 2.

Destilliertes Wasser wird mit Kohlensäure angereichert. Die Titration erfolgt mit Hilfe des auf Fig. 2 abgebildeten Apparates.

An der mit kohlensäurehaltigem Wasser gefüllten, etwa 5 l haltigen Flasche wird mittels eines Bürettenhalters die Bürette *A* befestigt. Das untere Ende des Glasrohres *a* reicht bis auf den Boden der Flasche und ist durch einen Gummistöpsel befestigt. Das obere Ende ist gebogen und mit dem Seitenrohre *b* der Bürette durch einen Gummischlauch eng verbunden. Auf den Schlauch kommt eine Klemme *k*. Das obere Ende der Bürette ist durch ein Natronkalkrohr abgeschlossen; am unteren ist ein etwa 20 cm langer Gummischlauch *g* befestigt, welcher ebenfalls durch eine Klemme abgeschlossen ist. Der Schlauch wird

mit einem Glasrohr *f*, dessen unteres Ende fein ausgezogen ist, verbunden. Das Glasrohr sitzt fest in einem Gummistöpsel *l*. In einer zweiten Öffnung des letzteren ist abermals ein Natronkalkrohr befestigt. Der Gummistöpsel mufs genau zu dem 100 ccm fassenden Erlenmeyerschen Kolben passen, in welchem dann die Titration vorgenommen wird. Mittels des Druckballons *B* wird die Lösung in die Bürette getrieben. Zwischen dem Ballon und der Flasche ist auch ein Natronkalkrohr *c* eingeschaltet.

Die bei der Verbrennung zu benutzende Sodalösung braucht keine abgewogene Menge Phenolphthalein zu enthalten. Es ist jedoch zweckmäfsig, etwas Indikator zuzusetzen, um den Verlauf der Verbrennung kontrollieren zu können. Eine völlige Entfärbung darf nicht eintreten.

Zur Titration entnimmt man mit einer Pipette 30 ccm der zu untersuchenden Sodalösung und bringt sie in den Erlenmeyerkolben, welcher vorher mit kohlensäurefreiem destilliertem Wasser ausgespült worden ist und in den man 4 Tropfen konzentrierter alkoholischer Phenolphthaleinlösung zugesetzt hat, gleichgültig, ob die Sodalösung schon früher gefärbt war oder nicht. Der Kolben wird alsdann dicht verschlossen mit dem Gummistöpsel *l*. Man titriert nicht bis zur völligen Entfärbung, sondern bis zu einem gewissen Minimum der Färbung, an welches man sich zu gewöhnen hat. Die Titration erfolgt unter fortwährendem Umschütteln des Kolbens und darf nicht viel mehr oder viel weniger als drei Minuten dauern.

Man lasse die Kohlensäurelösung tropfenweise zufliefsen. Beim raschen Titrieren giefst man sicher zu viel zu, weil die Kohlensäure nur allmählich von der Soda gebunden wird, und somit ist auch die Entfärbung keine plötzliche. Zum Vergleich stellt man einen Kolben von der gleichen Gröfse mit Wasser gefüllt daneben. Die Titration darf nur so weit geführt werden, dafs ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Kolben noch mindestens eine halbe Stunde bestehen bleibt. Gewöhnlich nimmt die Lösung nach einer Weile an Rotfärbung zu und dieses ist durch den geringen Partialdruck der CO_2 im Kolben bedingt.

Die Stärke der CO_2-Lösung nimmt ziemlich rasch ab, so dafs vor jeder Titration der Titer neu bestimmt werden mufs. Die Bürette mufs jedesmal solange mit der CO_2-Lösung gewaschen werden, bis der Titer in zwei nacheinander gefüllten Büretten sich um nicht mehr wie 0,2 ccm unterscheidet.

In erster Linie mufs der Sodaprozentgehalt der Grundlösung bestimmt werden.

Zu diesem Zwecke werden, wie früher beschrieben, 100 ccm der Lösung ausgekocht in eine Patentflasche gebracht und daraus die nötige Menge mit einer 30 ccm-Pipette entnommen.

Zuerst werden zwei Titrationen der Grundsodalösung aus zwei Büretten gemacht; aus diesen wird das Mittel genommen. Alsdann titriert man die ausgekochte Sodalösung. Wenn für 30 ccm der Grundlösung a ccm CO_2-Lösung verbraucht worden sind und b ccm für die ausgekochte Sodalösung, so ist der Sodaprozentgehalt der Grundlösung gleich $\frac{a \cdot 100}{b}$.

Diese Bestimmung mufs mindestens alle acht Tage neu ausgeführt werden.

Nach der Verbrennung giefst man die Sodalösung in Patentflaschen; die Lösung aus den zwei kleinen Röhren kann zusammengegossen werden.

Man macht demnächst drei Titrationen mit je 30 ccm. Die Werte für die ersten zwei Röhren sind mit 8, für die beiden letzten zusammen mit 6 zu multiplizieren.

Wie gesagt, mufs vor jeder Reihe von Titrationen, welche nicht mehr als eine Stunde dauert, der Titer der CO_2-Lösung bestimmt werden.

Zu diesem Zwecke titriert man aus zwei Büretten je 30 ccm der Grundlösung, deren Prozentgehalt auf die vorher beschriebene Weise festgestellt worden ist.

Wenn für 30 ccm n ccm CO_2-Lösung verbraucht worden sind, und die Sodalösung m-Prozente stark ist, so enthält 1 ccm der CO_2-Lösung $\frac{3\,m}{n \cdot 100}$ mg Kohlensäure. Man berechnet die

Menge der bei der Verbrennung gebundenen Kohlensäure so, daſs man die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter von der Zahl, welche für die Grundlösung verbraucht worden sind, abzieht. Da nun die Stärke der CO_2-Lösung jedesmal bekannt ist, so erhält man durch die entsprechende Multiplikation den Wert. Hat man 30 ccm der beispielsweise aus dem ersten oder zweiten Rohre entnommenen zu untersuchenden Sodalösung genommen und 15 ccm CO_2-Lösung verbraucht, dagegen für die Grundlösung 20 ccm notwendig gehabt und enthält 1 ccm der CO_2-Lösung 0,2 mg Kohlensäure, so würde man für die Menge der im Rohre absorbierten Kohlensäure (20—15) 0,2 · 8 mg CO_2 finden müssen. Der Titer der CO_2-Lösung ist so einzustellen, daſs davon etwa 20—25 ccm 30 ccm der Grundsodalösung entsprechen.

Die Genauigkeit der eben beschriebenen Methode ist dadurch eingeschränkt, daſs man Differentialtitrationen auszuführen hat. Bei einiger Übung jedoch dürfte der absolute Fehler nicht über 0,5 mg C hinausgehen, was eine Annäherung von etwa 10% ausmacht.

		Berechnet mg	Differenz mg
0,02 Harnstoff gaben —	4,48 mg C.	4,0	+ 0,48
	4,20		+ 0,20
	3,69		— 0,31
	3,70		— 0,30
0,03 Harnstoff gaben	6,38	6,0	+ 0,38
	5,58		— 0,42
	5,91		— 0,09
	6,04		+ 0,04

Die angeführten Methoden wurden benutzt für die Bestimmung des organischen Kohlenstoffes in verschiedenen Wasserproben.

Ihr Gebrauch könnte gewiſs ausgedehnt werden auch auf Stoffwechselversuche, beispielsweise Respirationsversuche bei kleinen Tieren.

Für eine Bestimmung braucht man je nach der Güte des Wassers von 100—200 ccm (für Flufswasser), bis 1 l (für Leitungswasser).

Es werden 200 ccm des zu untersuchenden Wassers mit $^1/_2$ ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt (1 Volumenprozent auf 3 Wasser) und auf dem Wasserbade bis auf etwa 8 ccm eingeengt. Nimmt man mehr als 200 ccm, so mufs die Menge portionsweise beim Einengen zugegossen werden. Die Reaktion mufs die ganze Zeit deutlich sauer bleiben.

In saurer Lösung werden die meisten in Betracht kommenden organischen Verbindungen nicht zerstört, auch wird dabei die freie und halbgebundene CO_2 vertrieben. Die Verbrennung vollzieht man in folgender Weise. 10,0 Kaliumbichromat werden in den Verbrennungskolben gebracht, der Apparat zusammengestellt und eine halbe Stunde lang kohlensäurefreie Luft durchgesogen. Der Schlauch, welcher den Verbrennungskolben mit dem Kühler verbindet, mufs oft gewechselt werden, weil er von den Schwefelsäuredämpfen angegriffen wird.

Die Flammen unter dem Verbrennungsrohr werden gleich im Anfang angezündet. Nach einer halben Stunde wird die Wasserstrahlpumpe abgestellt und die vorher getrockneten Pettenkoferschen Röhren vermittelst Hahnpipetten mit der Sodalösung gefüllt. Es wird nun ein mäfsiger Luftstrom durchgesogen. Das eingeengte Wasser giefst man in den Seitentrichter des Verbrennungskolbens und läfst es langsam in den Kolben fliefsen. Die Schale wird sorgfältig mit konzentrierter H_2SO_4 nachgewaschen und im ganzen 90—100 ccm konzentrierter Schwefelsäure in den Kolben gebracht. Die Verdünnung darf nicht zu grofs sein; beim Erhitzen des Kolbens mufs es zur Entwicklung weifser Schwefelsäuredämpfe kommen.

Der Kolben wird allmählich erwärmt bis die Gasentwicklung eine lebhafte geworden ist und alsdann die Flamme reguliert. Nach beendeter Gasentwicklung wird noch eine Viertelstunde lang Luft durchgesogen. Alsdann ist die Verbrennung

zu Ende.[1]) Wir führen an dieser Stelle eine Tabelle an, in der die erhaltenen Werte für 6 verschiedene Wasserproben enthalten sind.

C-Gehalt in Milligramm.

		Kalorimetr.	Titration	Im Durchschnitt pro l	
				Kolorimetr.	Titration
Berliner Leitungswasser	1 l	5,26	4,83	5,24	4,94
	1 l	5,22	5,04		
Charlottenburger Leitungswasser	1 l	4,54	4,20	4,62	4,24
	1 l	4,70	4,28		
Berliner Grund- (Brunnen) Wasser	1 l	4,41	4,15	4,39	4,15
	1 l	4,36	4,15		
Spandauer Grund- (Brunnen) Wasser	500 ccm	2,73	2,50	5,42	4,85
	500 ccm	2,69	2,35		
Spreewasser Berlin (nicht filtriert)	200 ccm	4,35	3,94	21,40	19,50
	200 ccm	4,23	3,86		
Panke Berlin (nicht filtriert)	250 ccm	4,04	3,90	16,40	15,28
	250 ccm	4,16	3,74		

Zum Vergleich sei hier angeführt, dafs Rubner[2]) auf elementaranalytischem Wege für das Berliner Leitungswasser 5,58 mg organischen C pro Liter gefunden hat.

Die beschriebene Titrationsmethode kann auch zur Bestimmung der freien Kohlensäure im Wasser benutzt werden. Zu diesem Zwecke werden zuerst 30 ccm der Grundsodalösung titriert und darauf 30 ccm der Lösung plus 50 ccm des zu untersuchenden Wassers. Der Gehalt an CO_2 in der Kubikzentimeter-Menge der CO_2 Lösung, welche hier den Unterschied ausmacht, entspricht der CO_2-Menge in 50 ccm Wasser.

Beispielsweise haben wir im Berliner Leitungswasser 5,8 mg freie CO_2 pro Liter gefunden.

1) Nach der Verbrennung entsteht im Kolben oft, besonders wenn die Flüssigkeit erkaltet ist, ein fester Niederschlag, welcher fest an den Wandungen haftet. Er kann zweckmäfsig durch Erhitzen mit verdünnter Lauge entfernt werden.

2) Archiv für Hygiene, Bd. LXII, S. 89.

Verhältnis der Säulenhöhen	Menge CO_2 in je 10 ccm in mg	Verhältnis der Säulenhöhen	Menge CO_2 in je 10 ccm in mg
1,01	0,0240	1,36	0,4398
1,02	0,0460	1,37	0,4470
1,03	0,0650	1,38	0,4541
1,04	0,0830	1,39	0,4611
1,05	0,1000	1,40	0,4680
1,06	0,1165	1,41	0,4748
1,07	0,1325	1,42	0,4815
1,08	0,1480	1,43	0,4872
1,09	0,1630	1,44	0,4925
1,10	0,1778	1,45	0,4976
1,11	0,1925	1,46	0,5026
1,12	0,2062	1,47	0,5073
1,13	0,2195	1,48	0,5118
1,14	0,2325	1,49	0,5160
1,15	0,2452	1,50	0,5200
1,16	0,2572	1,55	0,5420
1,17	0,2691	1,60	0,5600
1,18	0,2805	1,65	0,5760
1,19	0,2915	1,70	0,5900
1,20	0,3020	1,75	0,6020
1,21	0,3123	1,80	0,6140
1,22	0,3223	1,85	0,6255
1,23	0,3320	1,90	0,6360
1,24	0,3415	1,95	0,6440
1,25	0,3508	2,00	0,6500
1,26	0,3600	2,10	0,6650
1,27	0,3688	2,20	0,6790
1,28	0,3774	2,30	0,6920
1,29	0,3858	2,40	0,7040
1,30	0,3940	2,50	0,7150
1,31	0,4020	2,60	0,7250
1,32	0,4098	2,70	0,7340
1,33	0,4175	2,80	0,7420
1,34	0,4251	2,90	0,7490
1,35	0,4325	3,00	0,7550

Zum Schlufs ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Professor Dr. Max Rubner an dieser Stelle für die Anregung zu dieser Arbeit meinen wärmsten Dank auszusprechen. Dem chemischen Assistenten Herrn Dr. Paul Nawiasky danke ich für die praktischen Anweisungen bei der Ausführung der Versuche.

Experimentelle Beiträge zur Frage der Entstehung des Sonnenstichs.

Von

Privatdozent Dr. **P. Schmidt,**
I. Assistenten am Hygienischen Institut der Universität.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Franz Hofmann.)

In einer meiner früheren Arbeiten »Über Sonnenstich und über Schutzmittel gegen Wärmestrahlung«, Archiv f. Hygiene Bd. XLVII, konnte ich erweisen, dafs die Schädeldecke in ihrer gesamten Dicke für Wärmestrahlen einer starken Lichtquelle durchlässig ist. Nach dieser Feststellung war die Möglichkeit der Entstehung des reinen Sonnenstichs (Insolation) durch direkte Bestrahlung der Hirnrinde gegeben. Von der Annahme einer reflektorischen Wirkung, ausgehend von den durch die Sonnenstrahlung alterierten Nerven und Gefäfsen der Kopfhaut, glaubte ich, weil der experimentellen Untersuchung nicht zugänglich, absehen zu dürfen. Konnte die Diathermanität der gesamten Schädeldecke für eine künstliche Wärmequelle erwiesen werden, um wieviel gröfser, so folgerte ich damals, müfste sie bei der viel intensiveren Tropensonne sein. Eine quantitative Bestimmung der in die Schädelkapsel und in die Körpergewebe eindringenden Wärmemenge wurde damals nicht vorgenommen. Das Ziel der nachfolgenden Untersuchungen ist, die Intensität der bei Bestrahlung mit der Tropensonne bis zur Hirnrinde vordringenden Wärme

quantitativ zu messen. Die experimentell-physikalischen Arbeiten, die dazu nötig waren, wurden im Physikalischen Institut der Universität mit gütiger Erlaubnis des Vorstandes, des Herrn Prof. Wiener, ausgeführt. Die Untersuchungsmethode, die eine direkte Übertragung der mit Bogenlicht gewonnenen Resultate auf das Sonnenlicht möglich macht, verdanke ich Herrn Privatdozenten Dr. Scholl, I. Assistenten am Physikalischen Institut. Für die liebenswürdige Beihilfe, die mir Herr Dr. Scholl während meiner Studien in entgegenkommendster Weise leistete, spreche ich ihm hiermit meinen verbindlichsten Dank aus.

Untersuchungsmethode.

Wenn die auf einen diathermanen Körper treffende Wärmemenge mit E, die durch denselben hindurchstrahlende mit e bezeichnet wird, so drückt sich die Durchlässigkeit δ dieses Körpers in dem von der Strahlungsintensität selbst unabhängigen Quotienten aus:

$$\frac{e}{E} = \delta.$$

Dieser Wert δ ist für jeden diathermanen Körper mittels Thermosäule und Galvanometer feststellbar. Zu dem Zwecke hat man nur nötig, das eine Mal die Thermosäule mit, das andere Mal ohne Vorschaltung des Objektes mit derselben Lichtquelle zu bestrahlen, wobei zu grofse Ausschläge mit Widerständen zu verringern und darnach umzurechnen sind. Kennt man nun δ und das einer beliebigen Strahlung zukommende E, so ist das entsprechende e ohne weiteres durch Rechnung feststellbar:

$$e = E \cdot \delta.$$

Nimmt man die Prüfung der Durchlässigkeit nicht mit weifsem Lichte, sondern mit den einzelnen Spektralfarben von bekannter Wellenlänge vor, so lassen sich die Werte ohne weiteres in eine Beziehung zum Sonnenlichte setzen. Es müssen sich die Wärmemengen der durchgehenden und der auffallenden Strahlen wie die Integrale der e- und E-Kurven verhalten. Nennt man s die gesamte Wärmemenge der durchgehenden Strahlen,

S die der auffallenden (= der gesamten Strahlungsenergie der Sonne), so ist demnach:

$$s = \frac{\int e \cdot d\lambda}{\int E \cdot d\lambda} \cdot S$$

$$s = \frac{\int E \cdot \delta \cdot d\lambda}{\int E \cdot d\lambda} \cdot S.$$

Die Solarkonstante beträgt 3—4 g-Kal. pro qcm und Minute (im Äther!), während in unserer Breite die Gesamtstrahlung der Sonne auf der Erde 0,4—1,6 g-Kal. ausmacht. Man wird also die Gesamtstrahlung der Sonne in den Tropen bei der Steilheit der auffallenden Strahlen getrost 2 g-Kal. annehmen dürfen.

Die von λ (d. i. die Wellenlänge der einzelnen Spektralfarben) abhängigen Werte für E (= gesamte Wärmestrahlung) lassen sich hinreichend genau nach der folgenden Formel berechnen:

$$E = \frac{\text{Konstante}}{\lambda^5} \cdot e^{-\frac{\beta}{\lambda \cdot T}},$$

wobei e die Basis der natürlichen Logarithmen, $\beta = 14\,440$ und T die absolute Temperatur der Sonne bedeuten. Es ist dies die für den »schwarzen Strahler« gültige Formel von W. Wien.

Bedenken könnten entstehen, ob die Sonne als »schwarzer Strahler« zu betrachten ist. Da aber nach Versuchen von Langley und anderen die nach der Formel berechneten Werte gut mit den durch direkte Beobachtung gefundenen (natürlich nach Berücksichtigung der durch Kohlensäure und Wasserdampf der Atmosphäre bewirkten Absorption) übereinstimmen, so dürfen auf jeden Fall die E-Werte aus der angeführten Gleichung berechnet werden können. Für die absolute Temperatur der Sonne ist dabei der Wert $T = 5700^0$ zu setzen.

Selbstverständlich aber bringt die obige Formel nicht den Einfluſs der Absorption in der Erdatmosphäre zum Ausdruck. Man rechnet so also nicht mit der wirklich vorhandenen Strahlung, sondern mit einer idealen, die von der wirklichen immerhin etwas abweicht. Da aber der Einfluſs der Absorption haupt-

sächlich im Ultra-Rot sich bemerkbar macht, wo bereits E, und wie die später anzuführenden Versuche erkennen lassen, auch δ gering werden, so darf diese Ungenauigkeit wohl aufser acht gelassen werden.

Die auf die beschriebene Weise erhaltenen Werte für E und δ sind nun in ihrer Abhängigkeit von λ in Kurven darzustellen und aus diesen Kurven für jedes λ der Wert $e = E \cdot \delta$ zu berechnen.

Die von den so gewonnenen E- und e-Kurven begrenzten Flächen, d. h. die Integralwerte $\int E\, d\lambda$ und $\int e\, d\lambda$, sind mit dem Planimeter auszumessen. Alsdann kann für jede absorbierende Schicht leicht der hindurchtretende Teil der Sonnenstrahlung berechnet werden:

$$s = \frac{\int e\, d\lambda}{\int E\, d\lambda} S.$$

Was die Ermittelung der δ-Werte anlangt, so sei zunächst eine prinzipielle Schwierigkeit hervorgehoben. Die auf ihre Durchlässigkeit zu untersuchende Schicht absorbiert die auffallende Strahlung nicht nur, sondern macht sie auch diffus. Die hindurchgehende, von der Thermosäule aufgefangene Energie hängt deswegen noch ab von der Ausdehnung der Schicht und von ihrem Abstand von den Lötstellen, mit einem Worte von dem räumlichen Winkel, unter dem von den Lötstellen gesehen, diese Schicht erscheint. Dieser Winkel müfste, damit richtige δ-Werte erzielt werden, der Halbkugel gleichkommen.

Man kann nun entweder versuchen, diesen Verhältnissen nahezukommen, oder man kann von vornherein die Strahlung durch vorgeschaltete Mattgläser diffus machen und nun einfach dahinter die absorbierende Schicht einführen. Beide Verfahren wurden durchgeführt und lieferten δ-Werte, die zwar nicht ganz übereinstimmten, aber doch nur Unterschiede von 20% aufwiesen. Dabei besafs die absorbierende Schicht jeweils eine Ausdehnung von 40×40 mm, und ihre Oberfläche war etwa 10 mm von den Lötstellen der Thermosäule entfernt. Bei den Untersuchungen wurde deshalb immer mit diffus gemachtem Licht gearbeitet.

Die Thermosäule nach den Angaben von Rubens ausgeführt, besafs dünn ausgeschlagene, gut berufste Lötstellen und nahm deswegen schon nach ca. 10 Sekunden den definitiven Erwärmungszustand an; es konnte deshalb jedesmal bis zur konstanten Galvanometereinstellung gewartet werden.

Die Thermosäule war in ein besonderes, durch Metalldeckel verschliefsbares Kästchen eingebaut, in das die Mattglasscheiben und aufserdem die auf durchbrochenem Metallschieber befestigten absorbierenden Schichten eingeführt werden konnten. Die Versuche fanden dann in der Weise statt, dafs erst ohne, dann mit dem absorbierenden Körper die Einstellungsänderungen des mit der Thermosäule ständig verbundenen Galvanometers beobachtet wurden, wie sie beim Öffnen und Schliefsen des erwähnten Metalldeckels entstanden. Dafs man die mit Widerständen verringerten Ausschläge zum vollen Werte umrechnen darf, wurde durch Versuche besonders erwiesen.

Als Strahlungsquelle diente eine 20-Ampèrebogenlampe, deren Licht mit einer Linse gesammelt und mit einer Wasserküvette für das helle Spektrum gekühlt wurde. Durch geeignete Lichtfilter (verschiedenfarbige Glasplatten, Glastrog mit Jod in Schwefelkohlenstoff mit und ohne Wasserküvette) wurden leidlich reine Strahlungen hergestellt, nämlich blau mit einer mittleren Wellenlänge von 0,47 μ, grün mit 0,55 μ, rot mit 0,75 μ, dunkelrot mit 0,80 μ und ultrarot mit 1,00 μ. Das Dunkelrot mit 0,80 μ ist natürlich nicht mehr sichtbar; es ist hier nur zum Unterschiede von der letzten Strahlenart nicht als ultrarot bezeichnet.

Durchlässigkeit verschiedener Körpergewebe.

Es folgen die Durchstrahlungswerte (δ) bei Haut (Bauchhaut), Fett, Muskel (mit längsverlaufender Faserrichtung), Schädelknochen, gesamte Schädeldecke mit Haut, Blut und Gehirn mit ihren zugehörigen Kurven.

Lichtart und Wellenlänge		Haut 3 mm	Fett 8 mm	Muskel 6 mm	Knochen 6 mm	Ganze Schädeldecke 10 mm	Blut 3 mm	Gehirn 2,5 mm
blau	0,47 μ	0,004	0,009	0	0,007	0	0	0
grün	0,55 μ	0,062	0,046	0,016	0,029	0	0,014	0,015
rot	0,75 μ	0,255	0,074	0,114	0,114	0,035	0,021	0,060
dunkelrot	0,80 μ	0,265	0,190	0,140	0,146	0,021	0,061	0,037
ultrarot	1,00 μ	0,121	0,069	0,040	0,068	0,008	0,036	0,023

Im folgenden sind die Werte für E, e und e_1 (die durch die Haut hindurchgehende Wärme) zusammengestellt und nebenstehend in Kurven gezeichnet.

	Wellenlänge	Wert für E
ultraviolett	0,20 μ	0,010
	0,30 μ	0,088
	0,35 μ	0,136
	0,40 μ	0,173
blau . . .	0,47 μ	0,196
grün . . .	0,52 μ	0,201
	0,55 μ	0,198
gelb . . .	0,59 μ	0,190

	Wellenlänge	Wert für E
rot	0,70 μ	0,159
	0,75 μ	0,144
dunkelrot .	0,80 μ	0,128
ultrarot . .	0,90 μ	0,101
	1,00 μ	0,079
	1,50 μ	0,025
	2,00 μ	0,009

Gesamte Schädeldecke.

	Wert für δ	Wert für E	Wert für e
blau . . .	0	0,196	0
grün . . .	0	0,198	0
rot	0,035	0,144	0,005
dunkelrot .	0,021	0,128	0,003
ultrarot . .	0,008	0,079	0,001

Haut.

	Wert für δ	Wert für E	Wert für e_1
blau . . .	0,004	0,196	0,001
grün . . .	0,062	0,198	0,012
rot	0,255	0,144	0,037
dunkelrot .	0,265	0,128	0,034
ultrarot . .	0,121	0,079	0,010

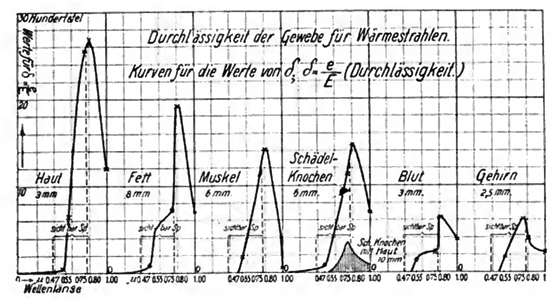

Durchlässigkeit der Gewebe für Wärmestrahlen.
Kurven für die Werte von δ, δ = e/E (Durchlässigkeit.)
30 Hundertstel
Werte für δ = e/E
Haut 3 mm
Fett 8 mm
Muskel 6 mm
Schädel-Knochen 6 mm
Blut 3 mm
Gehirn 2,5 mm
Sch. Knochen mit Haut 10 mm
Wellenlänge

Fig. 1.

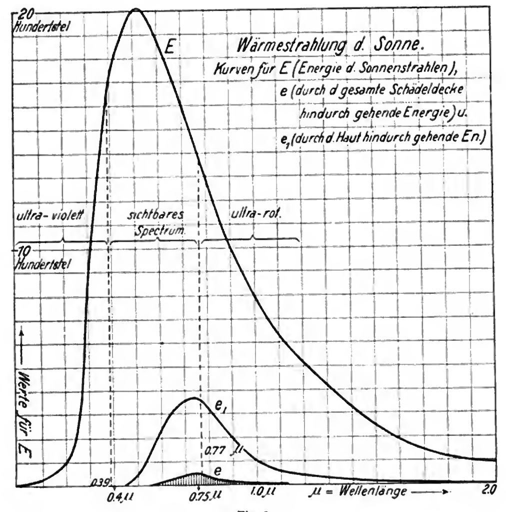

Wärmestrahlung d. Sonne.
Kurven für E (Energie d. Sonnenstrahlen),
e (durch d. gesamte Schädeldecke hindurch gehende Energie) u.
e₁ (durch d. Haut hindurch gehende En.)
20 Hundertstel
10 Hundertstel
ultra-violett
sichtbares Spectrum
ultra-rot
Werte für E
0.39
0.4 μ
0.75 μ
0.77 μ
1.0 μ
μ = Wellenlänge
2.0

Fig. 2.

Die Integrale der drei obigen Kurven[1]) wurden mit einem Amslerschen Planimeter ausgemessen. Sie betragen:

$$\int E\, d\lambda = 138{,}5 \text{ qcm}$$

$$\int e_1\, d\lambda = 12{,}0 \text{ »}$$

$$\int e\, d\lambda = 1{,}4 \text{ »}$$

Darnach berechnet sich also die durchgehende Wärmemenge s wie folgt:

$$s = \frac{\int e\, d\lambda}{\int E\, d\lambda} \cdot 2 = 0{,}02 \text{ g-Kal.}$$

$$s_1 = \frac{\int e_1\, d\lambda}{\int E\, \delta\lambda} \cdot 2 = 0{,}17 \text{ g-Kal.}$$

Das heifst also, dafs die mittlere Temperaturerhöhung der unterhalb der knöchernen Schädelkapsel gelegenen Schicht von 1 cm Dicke, deren spezifische Wärme = 1 gesetzt, in einer Minute 0,02° C betragen würde, wenn keine Ableitung der Wärme nach der Tiefe und Nachbarschaft stattfände. In einer Stunde betrüge dieser Zuwachs 1,2°, oder, wenn man nur die oberste, 2 mm betragende Schicht (Hirnhaut und liquor cerebro-spinalis) berücksichtigt: 6° C.

Es besteht wohl kein Zweifel, dafs dieser Betrag durch Wärmeleitung und den entwärmenden Einflufs des zirkulierenden Blutes wesentlich reduziert wird. Wohlgemerkt ist der Einflufs des strömenden Blutes auf die Diathermanität der Gewebe so gering, dafs er vernachlässigt werden kann. S. meine Arbeit über Sonnenstich, Archiv f. Hyg., Bd. XLVII, S. 271.

Ob die geringe Zufuhr von Wärme im Schädelinnern infolge direkter Diathermanität bei hochempfindlichen Individuen genügen würde, die Erscheinungen eines Sonnenstichs hervor-

1) Dieselben wurden nur zwischen 0 μ und 2 μ benutzt; der Rest ist wegen Kleinheit der Werte zu vernachlässigen. Die Verlängerung der Kurve e_1 geschah willkürlich nach der Tendenz der Kurve.

zurufen, darüber wissen wir zurzeit noch nichts. Dafs es gegen Sonnenstrahlen äufserst empfindliche Leute gibt, weifs ich aus eigener vielfältiger Erfahrung. Es scheint, als ob Menschen, die einen Unfall am Kopfe durch Sturz oder Schlag erlitten haben, diese Empfindlichkeit gegen Sonnenstrahlen in ganz besonders hohem Grade besäfsen. Mir wurde von Herrn Privatdozenten Dr. Doellken hier von einem Manne berichtet, der nach erlittenem Sturz auf den Kopf bei jeder nur einigermafsen andauernden Einwirkung der Sonnenstrahlen auf den Kopf mit einer heftigen Transpiration der der Unfallseite entgegengesetzten Kopfhälfte, mit Kopfschmerz und Schwindelgefühl reagierte. Andern als zerebralen Ursprungs kann dieses Symptom doch kaum sein.

Ich bin nach meinen eigenen Erfahrungen geneigt, dieser Disposition bei der Pathogenese des Sonnenstichs eine grofse Bedeutung beizumessen, so dafs man auch mit der Wirkung schon kleiner Temperaturerhöhungen der Hirnrinde zu rechnen hat. Die Verhältnisse liegen hier jedenfalls ganz ähnlich wie beim Hitzschlag, wo bereits die charakteristischen Erscheinungen des Hitzschlages auftreten können, obgleich nur Temperatursteigerungen von 38° oder wenig mehr, in der Achselhöhle gemessen, nachgewiesen werden.

Siehe meine Arbeit: »Über Hitzschlag an Bord von Dampfern der Handelsflotte, seine Ursachen und seine Abwehr«, Leipzig, Ambrosius Barth 1901.

Man darf vermuten, dafs in den meisten Fällen die Erscheinungen sowohl des Sonnenstichs wie auch des Hitzschlags die Folge einer Alteration der Blutgefäfse der Hirnrinde und der Hirnhäute sind. Eine an anderer Körperstelle noch kompensatorisch-ausgleichend wirkende Hyperämie wird durch Ödembildung für die Hirnrinde schon einen pathologischen Zustand bedeuten. In dieser Beziehung dürfte mit Recht dem Alkohol mit seiner schädigenden Wirkung auf das Gefäfsnervensystem und auf die gesamte Wärmeregulierung als disponierendem Faktor eine grofse Bedeutung beizumessen sein.[1])

---

1) S. Ph. Kuhn, Alkohol in den Tropen, Medizinische Klinik, 1907, Nr. 30.

Wirkung der Wärmeleitung.

Zu dem durch direkte Bestrahlung entstehenden Wärmeeffekt kommt nur noch ein Plus durch Leitung von der in der Schädeldecke absorbierten Sonnenwärme in die Tiefe. Und diese in der Schädeldecke absorbierte Wärme ist, wie die nachstehenden Erwägungen lehren, eine ganz enorme.

Vernachlässigt man einmal die geringe Wärmemenge, welche durch Reflexion von der Haut verloren geht, so werden rund pro qcm und pro Minute 2 g-Kal. in der Tropensonne absorbiert, d. h. die mittlere Temperaturerhöhung der Schädelkapsel, ihre Dicke = 1 cm und ihre spezifische Wärme = 1 gesetzt, würde ohne Ableitung von Wärme ca. 2° C betragen. In einer Stunde betrüge also die Menge der absorbierten Sonnenwärme 120 g-Kal. pro qcm Schädeldecke, wovon allerdings noch die Wärmemenge in Abzug zu bringen wäre, welche durch Verdunstung von Schweifs gebunden und durch das zirkulierende Blut fortgetragen wird. Nach meinen Berechnungen würde die zur Verdunstung einer maximalen Schweifsmenge von 0,5 kg pro Std. (ich konstatierte bei Schiffsheizern im heifsen Klima oft 1 kg Wasserverlust durch Haut und Lungen pro Stunde, in einem Falle sogar 2 kg. Siehe meine Arbeit über Hitzschlag an Bord, Ambrosius Barth 1901) für die gesamte Haut nötige Wärme auf den qcm pro Stunde kaum mehr als 15 g-Kal. betragen, so dafs pro Stunde noch rund ca. 100 g-Kal. übrig bleiben, wovon noch die Entwärmung durch das zirkulierende Blut und die Wärmeableitung in Abzug zu bringen wäre.[1])

Setzt man diese Wärmemenge zu $^2/_3$ der gesamten an, so bliebe immer noch ein Überschufs von rund 30 g-Kal. pro Stunde, die durch Leitung der tiefer gelegenen Schichten, also der Hirnrinde zugeführt werden. Die Entwärmung durch

1) Die Wärme, welche bei Verdunstung von Wasser von t^0 in Dampf von t^0 verbraucht (latent) wird, berechnet sich nach der Formel von Regnault wie folgt:

$$WE = (606{,}5 + 0{,}305 \cdot t) - (t + 0{,}00002 \cdot t^2 + 0{,}0000003 \cdot t^3).$$

Strahlung und Leitung an die umgebende Luft dürfte in den Tropen eine minimale oder gleich 0 sein.

Diese rohen Taxationswerte zeigen doch mindestens so viel, dafs die Erwärmung der Hirnrinde durch Leitung von der Schädeldecke her eine wesentlich gröfsere sein wird als die durch Diathermanität allein.

Bestrahlung lebender Gewebe.

Es fragt sich, inwieweit die Zirkulation eine Temperaturerhöhung im lebenden Gewebe infolge Bestrahlung aufzuheben imstande ist. Um einen Anhalt dafür zu bekommen, stellte ich an einem weifsen, an einer Stelle von den Haaren befreiten Kaninchen Versuche mit einer Thermonadel an, die ich dem Tier das eine Mal dicht unter die Haut (3 mm unter der Oberfläche), das andere Mal in einen Muskel 8 mm tief unter die Hautoberfläche einführte. Die Versuchsanordnung war die, dafs die eine Lötstelle der Nadel in Eisstückchen, die andere von der Seite her auf einer gröfseren Strecke unter die Haut vorgeschoben wurde. Zuvor war die Aichung der Thermonadel mit temperiertem Wasser vorgenommen worden. Die Bestrahlung der Hautstelle, unter welcher die wärmeempfindliche Lötstelle lag, geschah wiederum mit gesammeltem Bogenlicht und zwar in einer Entfernung von 15 cm vom Focus. Der Abstand zwischen Leuchtbogen und Linse betrug 20 cm, zwischen Linse und Hautoberfläche 115 cm, Brennweite der Linse 100 cm.

Das Resultat einer 30 Sek. währenden Bestrahlung war das eine Mal, wo die Lötstelle unter der Haut lag, eine Temperaturerhöhung um 3,4° C, das andere Mal im Muskel 1,3° C in derselben Zeit. Ich bemerke, dafs eine verbrennende Wirkung bei der Bestrahlung nicht stattgefunden hatte. Der einzige Effekt der häufig wiederholten Versuche, aus denen ein Mittel berechnet wurde, war eine geringe Röte der Haut. Eine Erwärmung durch Muskelzittern halte ich für ausgeschlossen, da die Bewegung des Spiegels immer momentan mit der Bestrahlung einsetzte. Bei Kontrolluntersuchungen ohne Bestrahlung blieb die Ruhelage des Galvanometers nahezu völlig erhalten.

Darnach läfst sich also mit Sicherheit behaupten, dafs die Zirkulation nicht imstande ist, den Wärmezuwachs durch Strahlung auszugleichen.

Durchlässigkeit der Haut.

Es ist von Interesse, noch die Wärmemenge zu bestimmen, welche durch die Haut hindurch in die Tiefe eingestrahlt wird. Das Integral von e_1 beträgt 12,0 qcm. Es berechnet sich also die durch die Haut noch hindurchgehende Wärmemenge pro Min. pro qcm:

$$s_1 = \frac{12,0}{138,5} \cdot 2 = 0,17 \text{ g-Kal.}$$

Es wurden demnach rund 90% der auf die Haut auftreffenden Wärmemenge in der Haut absorbiert und reflektiert, 10% nur dringen in die tieferen Schichten ein; bei der Negerhaut, die nach meinen früheren Untersuchungen etwa nur die Hälfte der Wärme wie die weifse durchläfst, dürfte die Absorption mindestens 95% der auffallenden Gesamtenergie betragen.

Es leuchtet ein, dafs es zur Verhütung einer Wärmeaufspeicherung im Körper von der gröfsten Bedeutung sein mufs, wenn sich die Zone der Wärmeabgabe (Verdunstungszone) und der Wärmeabsorption möglichst nahe sind.

In diesem Lichte betrachtet, gewinnt das Pigment der Negerhaut im Rete Malpighi, also sehr nahe der Hautoberfläche, eine grofse Bedeutung für den Organismus; es bewahrt die tieferen, schwerer abkühlbaren Schichten vor allzu intensiver Erwärmung und bewirkt, dafs die Absorptionszone der Verdunstungszone näher rückt als bei der weifsen Haut.

Ferner ist es gewifs zweckmäfsig, dafs die Wärmeabsorption in einer Tiefe geschieht, wo die Schweifsdrüsen am ehesten mit betroffen werden, wo sie also um so früher auf die Erwärmung reagieren können.

Nutzanwendung auf die Tropenkleidung.

Bei der sehr starken Inanspruchnahme der weifsen Haut in den Tropen mufs man sich die Frage vorlegen, ob es nicht zweckmäfsig wäre, an Stelle der üblichen weifsen Tropenkleidung eine schwarze oder doch dunklere zu wählen, wie ich dies bei einzelnen Europäern in den Tropen beobachten konnte. Es wird hierdurch ja die Absorptionszone über die Haut ganz in die Luft verlegt. — Bei der Entscheidung dieser Frage werden wohl zwei Faktoren sehr in die Wagschale fallen, einmal die Diathermanität, sodann die Ventilierbarkeit. Beide sind wiederum abhängig von Dicke, Webart und Material. Für dünne, gut ventilierbare Stoffe kann man soviel schon ohne Experiment sagen, dafs die schwarze Kleidung im allgemeinen einen gröfseren Schutz gegenüber Erwärmung der Haut durch helle Strahlung bieten mufs als eine weifse, stark diathermane. Die gröfsere Absorption der dünnen schwarzen Kleidung kommt ja kaum in Betracht als ungünstiges Moment, insofern schon bei ganz geringfügiger Luftbewegung eine Entwärmung eintritt. Steckt man einem Neger ein Thermometer in die oberste lockere Schichte des Kraushaars, so kann man in der Tropensonne schon nach ganz kurzer Zeit Temperaturanstiege über 60° C beobachten, falls völlige Windstille herrscht, während die geringste Luftbewegung das Thermometer sofort wieder sinken läfst. Dagegen werden dickere, schlecht ventilierte Stoffe von dunkler Farbe entschieden unzweckmäfsiger sein als hellfarbige, da die Entwärmung durch Lüftung nach gröfserer Absorption eine geringere ist. Zu einem definitiven Urteil im speziellen Falle ist die Bestimmung der Werte der Diathermanität, der Reflexionsfähigkeit und der Luftdurchlässigkeit unerläfslich nötig. Am zweckmäfsigsten dürften Stoffe mit möglichst grofser Reflexionsfähigkeit und Absorption (also geringer Diathermanität) und guter Ventilation sein.

Von grofser Wichtigkeit scheint es mir ferner zu sein, Tropenkleidung so locker und weit wie nur möglich zu wählen,

um eine grofse bewegliche Luftmenge über dem Körper zu lassen. In diesem Punkte können uns die Araber und Japaner mit ihren weiten lockeren Mänteln vorbildlich sein.

Kurze Zusammenfassung.

1. Die von der Tropensonne (Gesamtstrahlung = 2 g-Kal. pro Min. pro qcm) durch die gesamte Schädeldecke ohne Haar (10 mm dick) in das Schädelinnere eingestrahlte Wärmemenge beträgt pro Min. pro qcm 0,02 g-Kal., d. i. 1 % der gesamten auffallenden Wärme.

   Wenn eine Ableitung in die Tiefe nicht stattfände, würde das für die zunächst unter der Schädeldecke befindliche 2 mm dicke Schicht, die spezifische Wärme derselben = 1 gesetzt, pro Stunde einen Temperaturzuwachs von 6° C bedeuten. Dieser Durchstrahlungswert ist von der Blutzirkulation in der Schädeldecke so gut wie unabhängig.

2. Die in der Schädeldecke zur Absorption gelangende Wärmemenge beträgt, wenn man von der Wärmeableitung und Reflexion zunächst absieht, pro Min. und pro ccm etwa 2 g-Kal. Das macht die Stunde 120 g-Kal. Die durch Verdunstung einer maximalen Schweifsmenge von 0,5 kg pro Stunde verlorengehende Wärme beträgt höchsten Falles 15 g-Kal. pro ccm, so dafs immer noch ein Wärmezuwachs von rund 100 g-Kal. pro Std. im Gewebe stattfände. Würden davon auch $^2/_3$ durch Leitung und Zirkulation verloren gehen, blieben immer noch ca. 30 g-Kal. pro ccm und pro Stunde übrig. Die Wärmemenge ist so grofs, dafs die Annahme einer Erwärmung der tieferen Schichten und vor allem der Hirnrinde durch Wärmeleitung gerechtfertigt erscheint.

3. Die sekundäre, durch Leitung der in der Schädeldecke absorbierten Sonnenwärme entstehende Erwärmung der Hirnrinde dürfte demnach für die Entstehung des Sonnen-

stichs von gröfserer Bedeutung sein als die primäre Erwärmung der Hirnrinde durch Bestrahlung.

4. Aus den gegebenen Taxationswerten geht hervor, dafs eine Insolation in der Tropensonne mit Sicherheit eintreten mufs, wenn der Kopf keinerlei Schutz geniefst (durch Haar, Bedeckung), und wenn die Einwirkung der Sonne lange genug und in derselben senkrechten Richtung währt.
5. Von der gesamten, in der Schädeldecke absorbierten Sonnenwärme werden bereits 90% in der Haut zurückgehalten.
6. Die Blutzirkulation ist nicht imstande, den durch Absorption von Wärmestrahlen entstehenden Wärmezuwachs auszugleichen.
7. Die bedeutende Wärmeabsorption der Haut erscheint als eine sehr zweckmäfsige Einrichtung des Körpers, da sie die Ursache ist, dafs der gröfste Teil der Sonnenwärme bereits in der oberflächlichsten Schichte des Körpers aufgenommen wird. Es wird um so mehr zu einer Vertilgung der absorbierten Wärme kommen, je näher die Absorptionszone der Verdunstungszone liegt. Durch die intensive Erwärmung der Haut werden auch die Schweifsdrüsen viel energischer zur Tätigkeit angeregt, als wenn sich die absorbierte Wärme in der Tiefe verteilen würde.
8. Ob ein Kleidungsstoff in heller oder dunkler Farbe in den Tropen den Vorzug verdient, wird von der Diathermanität, dem Reflexions- und Absorptionsvermögen und der Luftdurchlässigkeit abhängen. Im allgemeinen werden unter dünnen, gut ventilierten Stoffen die dunkleren Vorteile bieten, da sie einen grofsen Teil der hellen Wärmestrahlen von der Haut abhalten und ihre gröfsere Absorption durch eine stärkere Ventilation ausgleichen.

Am Schlusse dieser Arbeit gestatte ich mir, meinem hochverehrten Chef, Herrn Geheimrat Hofmann, für die im Verlaufe meiner Untersuchungen mir erteilten wertvollen Ratschläge und Winke meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Über einen Fall von Friedländer-Bazillen im Harn und über die Agglutination von Kapselbakterien.

Von

Kreisassistenzarzt Dr. **Wolf**, Marburg.

(Aus dem Institut für Hygiene und experimentelle Therapie, Abteilung für Hygiene. Vorstand: Prof. Dr. Bonhoff.)

Im Sommer v. J. erhielt die Abteilung für Hygiene von Herrn Dr. W. in M. einen Urin zur Untersuchung mit folgenden Angaben:

Patient, 50 Jahre alt, niemals im Ausland gewesen, klagte bereits im Oktober 1905 etwa 4 Wochen lang über Druck (keine Schmerzen) in der Blasengegend und dann erneut im März 1906; keine Beschwerden beim Urinlassen. Allgemeinbefinden gut.

Im Urin war weder Eiweifs noch Zucker nachweisbar; das Sediment zeigt keine zelligen Elemente. Der Urin war meist klar, nur selten flockig. Nach intensiver körperlicher Arbeit (Radfahren, Gartenarbeit) soll das Druckgefühl auf der Blase zeitweise verschwunden sein.

Wie ich im Februar d. J. erfahren habe, sind die Beschwerden seit Mitte Juni v. J. allmählich besser geworden, schliefslich ganz geschwunden und bis jetzt noch nicht wiedergekehrt. Der neuerdings untersuchte Urin, welcher vollständig

klar und normal war, enthielt nicht den im vorigen Sommer gefundenen Bazillus.

In dem Ausstrichpräparat des vorjährigen Urinsediments liefsen sich keine Tuberkelbazillen nachweisen; es fanden sich aber in reichlicher Menge Stäbchen, deren Reinzüchtung gelang und die daher weiter untersucht wurden.

A. Morphologisches und kulturelles Verhalten.

Es handelte sich dabei um ein kleines, plumpes Stäbchen, das grofse Ähnlichkeit mit dem Friedländer-Bazillus hatte. Es färbte sich mit allen gebräuchlichen Farben und liefs keine verschieden gefärbten Stellen erkennen, auch war weder eine typische Lagerung der Bazillen zueinander noch eine Kapsel nachweisbar. Die unbeweglichen Stäbchen verhielten sich der Gramschen Methode gegenüber negativ und zeigten keine Sporen.

Das Wachstum war auf allen Nährböden sehr gut, am besten bei Brutschranktemperatur. Auf der Gelatine, die nicht verflüssigt wurde, bildeten die Stäbchen glänzende, knöpfchenförmige Kolonien, die sich von den Friedländer-Kolonien nur dadurch unterschieden, dafs die letzteren etwas kleiner sind. Im Gelatinestich trat die typische Nagelkulturform ein. Auf Agar wuchsen sie schneller als auf Gelatine in Form von schleimigen, grauglasig weifsen Belägen, während auf Glyzerinagar mehr graugelblich; im Agarstich zeigte sich ein stärkeres Oberflächen- als Tiefenwachstum. Auf der Kartoffel entstand langsam ein dicker, schleimiger, weifser Belag. Bouillon wurde langsam diffus getrübt, desgleichen in geringerem Grade Peptonwasser; die Indolreaktion war negativ. Milch wurde in einigen Tagen zur vollständigen Gerinnung gebracht, wobei sich das Koagulum am Boden niedersetzte. Lackmusmolke zeigte schon nach 24 Stunden eine starke Rötung, die bestehen blieb. Im Zuckeragar trat starke Gasbildung ein; Neutralrotagar wurde nicht entfärbt. Löffler-Serum wurde nach einigen Tagen verflüssigt. Die Lebensfähigkeit der Bazillen erstreckte sich weit über einen Monat hinaus.

B. Tierpathogenität.

Injizierte man 1 ccm einer 24 Stunden alten Agarkultur = $^1/_{100}$ Kultur weifsen Mäusen subkutan oder intraperitoneal, so gingen diese Tiere innerhalb weniger Tage ein. In der Bauchhöhle, die etwas trübe Flüssigkeit enthielt, und in den Organen wurden die Bazillen mit gut sichtbaren Kapseln gefunden und aus dem Herzblut in Reinkultur weitergezüchtet.

Meerschweinchen und Kaninchen reagierten weder auf subkutane noch intraperitoneale Injektion von Reinkulturen. Ferner wurden je 4 weifse Mäuse mit Reinkulturen dreimal (mit dreitägigen Pausen) gefüttert, ohne dafs sie eingingen oder krank wurden. Desgleichen hatte auch die Fütterung von Kaninchen und Meerschweinchen mit Reinkulturen keinen Einflufs auf diese Tiere.

C. Biologisches Verhalten.

Da bekanntlich die Unterscheidung der Kapselbakterien auf Grund von morphologischen und kulturellen Merkmalen bisher keine sicheren Resultate gegeben hat, so hat man schon öfters die Agglutinationsmethode zu Hilfe genommen, nachdem Porges[1]) nachgewiesen hat, dafs es möglich ist, agglutinable Substanzen bei Kapselbakterien zu gewinnen. So hat auch Bertarelli[2]) durch eingehende Versuche festgestellt, dafs nach längerer Behandlung Seren erhalten werden, welche den in Untersuchung befindlichen Kapselbazillen gegenüber ein bedeutendes Agglutinationsvermögen besitzen. Derselben Ansicht ist auch Streit[3]), welcher den Grund, dafs die Resultate der verschiedenen Autoren so wenig miteinander übereinstimmen, in der mit einer Veränderung der Kapsel wechselnden Agglutinabilität der Stämme

1) Wiener klin. Wochenschrift 1905, Nr. 25.
2) Zentralbl. f. Bakt. I. Abt., Bd. 37, Ref., S. 341.
3) Zentralbl. f. Bakt. I. Abt., Bd. 40, Orig., S. 709.

sucht. Neuerdings ist es auch v. Eisler und Porges[1]) gelungen, mit Hilfe agglutinierender Immunsera Kapselbakterien zu differenzieren. Daher haben auch wir diese Methode in Anwendung gebracht.

Hierbei wurden zum Vergleich herangezogen einmal der im Marburger Institut vorhandene Friedländer und ferner ein von Kráhl frisch bezogener Friedländer-Stamm. Wir begannen mit einer Dosis von $^1/_4$ Kultur und stiegen bis zu 10 resp. 16 Kulturen; nur bei dem Friedländer-Prag erhielten wir schon ein hochwirksames Serum, nachdem wir bei 2 Kulturen nach fünfmaliger Einspritzung angekommen waren. Da mehrere Tiere gleichzeitig behandelt wurden, so standen uns verschiedene Seren zur Verfügung, die aber ziemlich dieselben Resultate gaben.

Es zeigte sich nun, dafs die Agglutination des untersuchten Bazillus (C) mit seinem eigenen Serum bis zu einer Verdünnung von 1 : 2000, mit dem des Friedländer-Marburg bis zu 1000 und dem des Friedländer-Prag bis zu 500 ging. Das Serum, das von Kaninchen stammte, welche mit den beschriebenen Bazillen behandelt waren, agglutinierte mit Friedländer-Marburg bis zu 1000, mit Friedländer-Prag bis zu 50, mit Ozaena-Bazillus bis zu 100 und mit dem Bacillus capsulatus bis zu 500, aber erst nach 24 stündiger Einwirkung.

Gleichzeitig wurden auch die Seren von Friedländer-Prag und Marburg auf die erwähnten Bazillen geprüft.

So zeigte das Friedländer-Marburg(A)-Serum folgendes Verhalten: Es agglutinierte mit Friedländer-Marburg bis 2000, mit Friedländer-Prag bis 100, mit Ozaena bis 500 und mit dem Kapselbazillus bis 100.

Die Agglutination des Friedländer(Prag)-Serums trat noch ein mit Friedländer (Prag) bei einer Verdünnung von 1 : 5000, mit Friedländer (Marburg) bei 1 : 2000, mit Ozaena bei 1 : 100 und Bacillus capsulatus bei 1 : 500.

1) Zentralbl. f. Bakt. I. Abt., Bd. 42, Orig., S. 660.

Zur weiteren Orientierung sei auf die Tabellen am Schlufs der Abhandlung verwiesen.

Um nun zum Schlufs nochmals die wichtigsten Eigenschaften des gefundenen Bazillus zu rekapitulieren, so ist zu erwähnen: es handelt sich um ein plumpes, gramnegatives Stäbchen, das im Tierkörper Kapsel bildet, unbeweglich ist, keine Sporen zeigt und auf festen Nährböden schleimige, grauweifse Beläge hervorruft. Es trübt Bouillon, bildet Säure und Gas, bringt Milch zur Gerinnung und verflüssigt Löffler-Serum. Für weifse Mäuse ist es bei subkutaner und intraperitonealer Anwendung pathogen. Was das biologische Verhalten anbetrifft, so agglutiniert sein Serum mit den Hauptvertretern der sog. Friedländer-Gruppe bis zu hohen Verdünnungen und umgekehrt.

Nach diesem Befunde ist es wohl berechtigt, den gefundenen Kapselbazillus in die Friedländer-Gruppe zu rechnen. Was auffallend und von grofsem Interesse ist, betrifft das Vorkommen dieses Bazillus im Sediment eines sonst kaum veränderten Urins. In der Literatur konnte ich nur wenige ähnliche Fälle finden. Abel[1]) erwähnt: »Bisweilen sind entzündliche Erkrankungen der Harnwege Kapselbazillen zur Last zu legen.« In der ausführlichen Arbeit von Clairmont[2]) werden zwei Fälle von Cystitis beschrieben, wo Kapselbazillen beobachtet wurden. Schliefslich berichtet Sachs[3]) noch über einen Fall von Pyonephrose, bei dem es gelang, aus dem Eiter einen Kapselbazillus rein zu züchten.

Für die gütige Überlassung dieses Falles und für die Unterstützung bei dieser Arbeit habe ich zum Schlufs noch Herrn Professor Dr. Bonhoff meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

1) Handbuch der pathogenen Mikroorganismen Kolle-Wassermann, 3. Band.

2) Zeitschr. f. Hyg., Bd. 39, H. 1.

3) Zentralbl. f. Bakt. I. Abt., Orig., Bd. 33, H. 9.

	C-Serum							B-Serum							A-Serum						
	20	50	100	500	1000	2000	5000	20	50	100	500	1000	2000	5000	20	50	100	500	1000	2000	5000
C	a +	a +	a +	a —	a —	a —	a —	a +	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b +	b +	b +	b +	b —	b —	b —	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b —
	c +	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c —
	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d —	d +	d +	d +	d +	d +	d —	d —	d +	d +	d +	d +	d —	d —	d —
B	a —	a —	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a +	a +	a +	a —	a —	a —	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a —
	b —	b —	b —	b —	b —	b —	b —	b +	b +	b +	b +	b +	b —	b —	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b —
	c —	c —	c —	c —	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c +	c +	c +	c —	c +	c +	c —	c —	c —	c —	c —
	d +	d +	d —	d —	d —	d —	d —	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d —	d —	d —	d —
A	a +	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a +	a +	a +	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b +	b +	b +	b +	b —	b —	b —	b +	b +	b +	b +	b +	b —	b —
	c +	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c +	c +	c —	c —	c +	c +	c +	c +	c +	c —	c —
	d +	d +	d +	d +	d +	d —	d —	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d —	d +	d +	d +	d +	d +	d +	d —
D	a +	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a +	a +	a —	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b —	b +	b +	b +	b +	b —	b —	b —
	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c +	c —	c —	c —
	d +	d +	d +	d —	d —	d —	d —	d +	d +	d +	d —	d —	d —	d —	d +	d +	d +	d +	d —	d —	d —
E	a +	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a —	a +	a —	a —	a —	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b —	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b —
	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c —	c +	c +	c +	c —	c —	c —	c —
	d +	d +	d +	d +	d —	d —	d —	d +	d +	d +	d +	d —	d —	d —	d +	d +	d +	d —	d —	d —	d —

Die Erklärung zu dieser Tabelle befindet sich Seite 38.

Zur Orientierung für die Tabellen:

A = Friedländer-Marburg,	a = sofort,
B = Friedländer-Prag,	b = nach 2 Stunden,
C = der untersuchte Bazillus	c = nach 10 Stunden,
D = Ozaena-Bazillus,	d = nach 24 Stunden.
E = Bacillus capsulatus.	

Über die Beeinflussung des Eiweifsumsatzes durch Fette und Kohlehydrate bei einigen Leberkrankheiten.

Von

T. W. Tallqvist,

Dozent der inneren Medizin an der Universität Helsingfors (Finland).

(Aus der medizinischen Klinik in Strafsburg. Prof. Krehl.)

Wie bekannt, vermögen Kohlehydrate und Fette auch dann, wenn sie nach isodynamen Werten dem Organismus zugeführt werden, in verschiedenem Grade die Stickstoffausscheidung herabzusetzen (»Eiweifs zu sparen«).[1] Diese Tatsache ist am Tier und am Menschen unter den verschiedensten Bedingungen festgestellt worden, sogar unter Bedingungen, die recht weit auseinander liegen. Dabei ergab sich die anmerkungswürdige Erfahrung, dafs beim Menschen unter Umständen die ungünstige Einwirkung der Fette auf die Stickstoffbilanz nur vorübergehend auftritt, wenn lediglich ein Teil der vorher verabreichten Kohlehydrate durch Fett ersetzt wird. Dagegen stellt sich ein Stickstoffdefizit von langer Dauer ein, falls die Kohlehydrate ganz ausfallen. D. h. die Minderwertigkeit der Fette als »Eiweifs-

---

1) Lit.: Kayser, Beziehungen von Fett und Kohlehydrate zum Eiweifsumsatz des Menschen. v. Noordens Beitr. 2, 1894. Tallqvist, Einflufs von Fett und Kohlehydrate auf den Eiweifsumsatz des Menschen. Archiv f. Hygiene, Bd. 41, 1902. Landergren, Untersuchungen über die Eiweifsumsetzung des Menschen. Skandinav. Archiv f. Physiologie, Bd. 14, 1903. Rosenfeld, Fett und Kohlehydrate. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 29, 1906. Rosenfeld, Kongrefs f. inn. Medizin, Wiesbaden 1907.

ersparer« gegenüber den Kohlehydraten steht fest, aber sie ist in Umfang und Dauer doch direkt abhängig von dem besonderen Zustande des Stoffwechsels. Landergren und Rosenfeld haben früher einige interessante Gesichtspunkte zur Deutung der obenerwähnten, recht eigenartigen Verhältnisse hervorgehoben. Uns schien es nicht undenkbar, dafs vielleicht von der Pathologie aus ein Licht in diese verwickelten Fragen fällt. Mehr und mehr bricht sich die Überzeugung von einer synthetischen Herstellung des Organeiweifses Bahn. Bausteine des Moleküls der Kohlehydrate und Fette werden offenbar hierfür verwendet: darin liegt eine Beziehung des Eiweifsstoffwechsels zu den stickstofffreien Substanzen. Die Leber gewinnt als möglicher Ort dieser Vorgänge Interesse. Es verlohnte sich deswegen, diese Seite des intermediären Stoffwechsels bei Leberkranken zu studieren und ich folgte einer Aufforderung des Herrn Prof. v. Krehl, das zu tun. Dabei leiteten uns auch diätetische Fragen und Interessen, denn unter den abweichenden Appetits- und Nahrungsverhältnissen mancher Leberkranken darf man schon erwarten, durch solche Versuche einigermafsen zu erfahren, wie weit man auch bei kranken Menschen das Recht hat, Kohlehydrate und Fette wechselseitig für einander einzusetzen.

Vorher ist nun zu fragen, ob die Methoden für die Beantwortung der Frage ausreichen. Wir kennen ja das physiologische Minimum von Kohlehydraten, das der Organismus braucht, nicht. Landergren und Rosenfeld schätzen es auf 40—50 g pro Tag, aber möglicherweise kommen doch individuell und sozial bedingte Verschiedenheiten vor. Unter diesen Umständen kann es sich jetzt nur darum handeln, zu vergleichen, ob die bei Kranken beobachteten Zahlen von denen an gesunden Menschen vorliegenden wesentlich abweichen.

Versuche.

Von dem zugänglichen Krankenmateriale wurden für diese Untersuchungen mehrere Arten von Leberaffektionen ausgewählt. Hierbei wurde darauf geachtet, dafs Fälle mit allgemeinem Hydrops oder mit Ascites nicht mitgenommen wurden, da sich

solche weniger gut für genaue Stoffwechseluntersuchungen eignen. Die Versuche wurden in der Weise angeordnet, dafs unter Beibehaltung möglichst derselben Menge N-haltiger Nährsubstanz in der Kost und ungefähr derselben Kalorienzufuhr (in den Fettperioden etwas reichlicher berechnet) die prozentischen Mengen der Fette und Kohlehydrate in der Nahrung in aufeinanderfolgenden Perioden variiert wurden innerhalb nicht sehr exzessiven Grenzen. Es war gerade die Absicht, eine solche Verteilung der Stoffe der beiden N-freien Nahrmittelgruppen durchzuführen, wie sie auch praktisch vorkommen kann in diätetischen Vorschriften und dabei möchte auch in den Fettperioden das Kohlehydratquantum das angegebene physiologische Minimum weit überschreiten.

Die Nahrung wurde sonst möglichst einfach gewählt. Es kamen folgende Speisemittel zur Anwendung: Fleisch, Eier, Roggenbrot, Zwieback, Milch, Butter, Schleimsuppe, Apfelkompott und Zucker. In einigen der Versuche wurde als Genufsmittel daneben täglich eine Tasse Kaffee und, wenn das nicht zu umgehen war, kleine Quantitäten Alkohol gegeben (250 ccm Elsässer Weifswein). Die Mengen und Verteilung der Nahrungsmittel mufsten selbstverständlich dem Appetit und den Gewohnheiten der Kranken nach eingerichtet werden, sonst wurde in den einzelnen Versuchen eine möglichst grofse Gleichförmigkeit in den verschiedenen Perioden angestrebt. Die Kranken lagen während der Dauer der Versuche im Bett. Medikamente wurden in den Untersuchungsperioden nicht dargereicht. Nur einige Kranke erhielten kleine Gaben Karlsbader Salz. Die Steigerung der Kohlehydrat- und Fettmengen in den verschiedenen Reihenfolgen geschah durch reichlichere Verabreichung von Rohrzucker resp. Butter. Die während der Versuche zugeführte Wassermenge wurde nicht reguliert.

Der Eiweifsgehalt der Nahrung in meinen Versuchen war ein mittelgrofser, ca. 9—11 g N pro die entsprechend, was als ausreichend bezeichnet werden mufs, besonders bei Menschen, die an grofse Quantitäten Eiweifs in der täglichen Kost nicht gewöhnt sind. Die gesamte Energiezufuhr gestaltete sich schon aus praktischen Gründen, wegen des meist schlechten Appetits der Kranken niedrig, aber sie steht doch nicht unter dem berechneten Ruhebedarf bei Bettlage.

Die N-Analysen wurden in gewöhnlicher Weise nach Kjeldahl ausgeführt. In der Nahrung wurden von jeder angewandten Fleischportion mehrere Stichproben besonders analysiert; das Gleiche geschah bei dem Brot. Für die übrigen Bestandteile des Essens habe ich mich mit Durchschnittszahlen von sonst nahe übereinstimmenden Einzelanalysen begnügt. Die Fett- und Kohlehydratprozente sind nach den zugänglichen Durchschnittswerten (Handbuch der Ernährungstherapie und Diätetik) berechnet. Der Harn

wurde immer in Doppelbestimmungen auf N analysiert. Die Fäces ebenso auf N und gesamt Eterextrakt (24 stündige Extraktion nach Soxhlet). Es war natürlich vonnöten, besonders bei den Kranken mit mangelndem Gallenzuflufs zum Darme, dem Einflufs der hierdurch bedingten Verminderung der Fettresorption Aufmerksamkeit bei der Kostanordnung in den verschiedenen Perioden zu schenken. Absichtlich wurde deswegen in den Perioden mit fettreicher Nahrung die Gesamtzufuhr etwas gröfser gewählt. Eine Bestimmung der Kohlehydratausnutzung ist nicht ausgeführt. Bei Berechnung der Nettokalorien habe ich in sämtlichen Perioden für die Kohlehydrate rund 4% abgezogen. Die Abgrenzung der Fäces geschah durch Karmin und gelang gut mit Ausnahme der Fälle II Periode I und IV Periode II, in denen aus äufseren Gründen nicht die gesamte Kotmenge der Periode erhalten wurde. Durch Berechnung wurde der hierdurch entstehende Fehler doch annähernd richtig korrigiert.

Fall I. Icterus catarrhalis. A. M., Tagner, 28 Jahre alt. Aufgenommen 12. Januar 1907, entlassen 15. Februar 1907.

Früher immer gesund. Erkrankte am 5. Januar 1907 mit Erbrechen und Stuhlbeschwerden, wozu sich bald Atembeschwerden zugesellten. Kein Stuhlgang in den vier ersten Tagen nach dem Erkranken. Seitdem täglich Stuhlgang, der angeblich erst schwarz, dann weifs und in den letzten Tagen weifsgelblich gefärbt gewesen ist. Gelbe Verfärbung der Haut und der Augen seit einem Tage. Nur geringes allgemeines Krankheitsgefühl. Appetit etwas schlecht. Potor wird verneint.

Stat. präs. Mittelgrofser, kräftig gebauter Mann von gutem Ernährungszustande. Knochen und Muskeln kräftig entwickelt. Fettpolster mäfsig stark. Hautfarbe stark ikterisch, Conjunctivae gleichfalls stark gelb gefärbt. Keine Narben, Drüsenschwellungen oder Exantheme vorhanden. Keine Ödeme. Keine Muskelschmerzen etwa spontan oder bei Berührung. Lungen normal. Herztöne rein, schwaches systolisches Geräusch an der Spitze. Keine Vergröfserung des Herzens. Puls regelmäfsig, 66 Schläge in der Minute. Temperatur normal. Am Leib geringe Druckempfindlichkeit unterhalb des Proc. xifoideus. Leber vergröfsert: Dämpfung bis 4 Querfinger unter den Rippenbogen. Milz fühlbar. Harn eiweifs- und zuckerfrei, von bierbrauner Farbe, Gmelin positiv. Fäces grauweifs gefärbt.

In diesem Versuch wird in der Periode I eine kohlehydratreiche Kost dargereicht, indem hier etwa 80% der Gesamtkalorien auf sie fällt. Die Bilanz zeigt uns, dafs in den fünf ersten Versuchstagen ein N-Defizit besteht, welches jedoch an Gröfse immer abnimmt und während der drei letzten Tage von einem steigenden N-Ansatz nachgefolgt wird. Anfänglich wird aber auch die Abendtemperatur des Kranken gesteigert gefunden und wir gehen sicher nicht falsch, wenn wir diesen ersten negativen Zahlen in der N-Bilanz von einem durch die Krankheit hervor-

Fall I. Periode I. Eiweifs 43—66 g, Fett 21 g, Kohlehydrate 331—385 g. Kalorien (netto) 1618—1927 = 29—35 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kal. kamen von Fett 9—7 Kal., von Kohlehydraten 80—79 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen	Ausgaben					N-Bilanz	Bemerkungen
			Harn			Fäces			
		Gesamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g		
15. Jan. 1907	55,5	6,82	1320	1015	9,14	1,09	5,58	— 3,44	
16. » »		6,82	1830	1013	9,25	1,09	5,58	— 3,52	Abendtemp. 37,9
17. » »		6,82	1495	1017	9,63	1,09	5.58	— 3,90	» 37,5
18. » »	54,9	6,82	1010	1019	8,01	1,09	5,58	— 2,28	» 37,5
19. » »		10,53	1400	1015	10,75	1,09	5,58	— 1,31	» 36,8. Der Kranke verspürt
20. » »		10,53	1480	1020	9,68	1,09	5,58	+ 1,24	Hunger. Ikterus vermindert. Milz und
21. » »		10,53	1275	1016	7,85	1,09	5,58	+ 1,59	Leber kleiner. Temperatur normal.
22. » »	54,4	10,53	1320	1015	7,12	1,09	5,58	+ 2,32	
								Sa. —11,75	
Periode II. Eiweifs 64 g, Fett 126 g, Kohlehydrat 95 g. Kalorien (n) 1852 = 34 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kal. kamen 66 Kal. Fett und 20 Kal. Kohlehydrate.									
23. Jan. 1907	54,4	10,27	1405	1020	7,91	1,36	4,77	+ 1,00	
24. » »		10,27	1490	1018	11,44	1,36	4,77	— 2,53	Leber nicht mehr schmerzhaft, kaum ver-
25. » »		10,27	1225	1024	16,98	1,36	4,77	— 8,07	gröfsert. Harn weniger dunkel. Gmelin
26. » »		10,27	1005	1026	14,35	1,36	4,77	— 5,44	nunmehr negativ. Fäces von normalem
27. » »		10,27	1415	1016	13,15	1,36	4,77	— 4,24	Aussehen.
28. » »	52,5	10,27	730	1031	11,63	1,36	4.77	— 2,72	Hautfarbe ziemlich normal. Conjunct.
29. » »		10,27	895	1024	11,52	1,36	4,77	— 2,61	noch ein wenig gelblich verfärbt.
30. » »	53,2	10,27	1005	1026	12,10	1,36	4,77	— 3,19	Patient fühlt sich gesund.
								Sa. —27,80	

gerufenen toxogenen Zerfall von Körpereiweifs bedingt ableiten wollen. Mit dem Überstehen der akuten Anfangsperiode und Eintreten von normalen Temperaturverhältnissen setzt bald eine N-Retention ein, welche bis zum Ende der Periode andauert. Ich will übrigens an dieser Stelle nicht die Frage weiter erörtern, inwieweit die klassische Auffassung des Icterus catarrhalis als auf einem Zuschwellen des Ductus choledochus und auf einfach mechanisches Hindernis des Gallenabflusses beruhend für diesen Fall zutreffend ist, oder ob nicht vielmehr hier in Anbetracht der subfebrilen Temperatur, der etwas schmerzhaften Leberanschwellung und des tatsächlich konstatierten toxogenen Eiweifszerfalles das Annehmen einer wahren infektiösen oder toxischen akuten Hepatitis uns den ganzen Symptomenkomplex besser verständlich macht.

In der Periode II wird bei Beibehaltung desselben Eiweifsquantums nun von den Kohlehydratkalorien ca. $^3/_4$ gegen Fett ausgetauscht, wobei noch immer 95 g (resp. 20 Kal.-Proz.) Kohlehydrate in der täglichen Nahrung bleiben. Die N-Bilanz zeigt am ersten Tage dieser Periode, welche sich der vorigen unmittelbar anschliefst, fortwährend ein kleines Plus, das augenscheinlich von einer Nachwirkung der vorgegangenen kohlehydratreichen Tage noch herrührt, aber an dem folgenden Tage schon setzt ein N-Verlust ein, welcher recht ansehnliche Ziffern erreicht. Am 25. Januar wurden ca. 55 g, am 26. Januar 34 g Eiweifs verloren usw. Es stellt sich während der 8 Tage, welche diese Periode umfafst, kein N-Gleichgewicht ein. Der Eiweifsverlust beträgt am letzten Tage noch immer ca. 20 g und in Summa werden während dieser Tage rund 164 g Eiweifs mehr zersetzt. Hierbei ist nun zu bemerken, dafs die Krankheitssymptome in dieser Zeit fortwährend in Rückgang begriffen gewesen sind, und dafs der Kranke am 30. Januar bei Ende des Versuches tatsächlich als gesund betrachtet werden darf. Bei 34 Kalorien pro Kilogramm Körpergewicht kann er aber während der ganzen Rekonvaleszenzzeit nicht den Energieumsatz in normaler Weise aufrechthalten, offenbar weil mit dieser Nahrung nicht ganz 100 g Kohlehydrate beigebracht werden.

Fall II. Cholelithiasis. Icterus gravis. J. F., 35jähriger Schneider. Aufgenommen 8. Februar 1907, entlassen 7. März 1907.

Mutter lungenleidend. Hat im Alter von 12 Jahren Typhus durchgemacht. Im 20. Jahre eine Woche gelbsüchtig gewesen. Seit dem Jahre 1898 oft kolikartige Schmerzen mit Erbrechen verbunden. Öfters Diarrhöe oder Obstipation in den letzten Jahren. Januar 1906 schwerer Kolikanfall, wonach er vier Wochen im Bett bleiben mufste und oft von Schmerzen im Leib geplagt war. Gelbfärbung der Haut wurde damals nicht beobachtet. Oktober 1906 wieder Kolikanfall. Vor drei Wochen hat eine immer zunehmende Gelbfärbung der Haut und der Augen begonnen, ohne dafs diesmal Kolikschmerzen wahrgenommen wurden; dabei hat der Kranke mehrmals Frösteln mit Zähneklappen gehabt. Diarrhöe und Schwindel. Die Stühle sind weifslich gewesen. Der Harn ist dunkel geworden und es hat sich starkes Hautjucken eingestellt, wodurch der Schlaf sehr gelitten hat.

Stat. präs. Kleiner, ziemlich kräftig gebauter Mann. Fettpolster mäfsig. Keine Drüsenschwellungen, keine Ödeme. Ganze Haut, Sclerae und Schleimhaut des harten Gaumens stark gelb gefärbt. Lungen normal. Herz von normaler Gröfse, Töne rein. Puls regelmäfsig, 60 bis 80 Schläge in der Minute, gut gefüllt. Blutdruck (Riva-Rocci) 105 mm Hg. Bauch nicht aufgetrieben, kein Ascites, keine Erweiterung der oberflächlichen Hautvenen. Leber etwas vergröfsert, gut palpabel mit gleichmäfsigem, mäfsig hartem Rande. Gallenblase nicht palpabel. Milz eben fühlbar. Urin stark dunkel, von saurer Reaktion, schaumt stark, kein Eiweifs, kein Zucker. Gmelin †. Stuhl weifs-grauweifs verfärbt. Temperatur morgens und abends unter 37°. Appetit mäfsig. Schlaf wegen Hautjucken sehr unruhig.

Der Versuch ist nicht ganz einwandsfrei, da die Einnahmen während der verschiedenen Tage recht ansehnliche Schwankungen zeigen und es auch nicht gelungen ist, wegen der Unruhe und der oft wechselnden Efslust des Kranken, die Perioden genügend lang zu gestalten. Die Summen der Tagesbilanzen, in denen die einzelnen Abweichungen sich verlieren, geben uns doch auch hier einige brauchbare Ziffern. So weit sich nun aus diesen ein Schlufs ziehen läfst, befindet sich der Kranke mit der gewöhnlichen, genügende Mengen Kohlehydrate enthaltenden Kost der Periode I im Stickstoffgleichgewicht. Trotz des Vorhandenseins eines aufserordentlich starken Ikterus besteht, wenigstens innerhalb den betreffenden Tagen des Versuches, kein toxogener Zerfall von Körpereiweifs in diesem Falle.

Eine ungünstige Beeinflussung des N-Umsatzes sehen wir aber auch hier in der Periode II eintreten, sobald die Kohlehydrate der Nahrung reduziert werden. Mit ca. 105 g Kohle-

Fall II. Periode I. Eiweiß 47—60 g, Fett 47 g, Kohlehydrat 345 g. Kalorien (n) 1864—1918 = 32—33 Kal. pro kg. Auf 100 Kal. Fett = 17 Kal., Kohlehydrate = 71 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen	Ausgaben					N-Bilanz	Bemerkungen
			Harn			Fäces			
		Gesamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g		
10. Febr. 1907	57,4	9,55	1085	1021	10,22	0,91	12,80	— 1,58	
11. » »		9,55	940	1022	7,98	0,91	12,80	+ 0,66	
12. » »		7,51	720	1024	7,16	0,91	12,80	— 0,56	Abends Veronal.
13. » »		8,28	750	1023	7,28	0,91	12,80	+ 0,09	» »
14. » »	56,1	7,46	830	1018	6,55	0,91	12,80	± 0,00	Hat Diarrhöe bekommen. Fäces vom letzten Tage nicht erhalten.
								Sa. — 1,39	

Periode II. Eiweiß 43—65 g, Fett 140 g, Kohlehydrate 105 g. Kalorien (n) 1791—1880 = 32—34 Kal. pro kg. Auf 100 Kal. Fett = 64 Kal., Kohlehydrate = 22 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Gesamt-N in g	Harn Menge in ccm	Harn Sp. G.	Harn N in g	Fäces N in g	Fäces Fett in g	N-Bilanz	Bemerkungen
18. Febr. 1907	55,8	10,39	1030	1020	9,54	0,95	10,87	— 0,10	Fäces wieder fest, grauweiß gefärbt.
19. » »		10,39	1460	1018	14,68	0,95	10,87	— 5,24	Trional oder Veronal jeden Abend.
20. » »		9,35	1200	1021	13,17	0,95	10,87	— 4,77	
21. » »		6,90	1120	1024	8,65	0,95	10,87	— 2,70	Appetit sehr schlecht.
22. » »	54,3	9,35	1280	1021	13,62	0,95	10,87	— 5,22	Ikterus fortwährend ebenso stark wie am Anfang des Versuches. Fäces grauweiß. Urin stark dunkel, ohne Eiweiß und Zucker. Gmelin †.
								Sa. — 18,03	

hydrate in einer sonst ausreichenden Kost wird hier N-Gleichgewicht nicht erreicht. Das N-Defizit beträgt in den fünf Tagen dieser Periode ca. 18 g und aller Wahrscheinlichkeit nach würde sich der Zerfall von Körpereiweifs auch in den folgenden Tagen noch fortsetzen, wenn nicht der Versuch hätte abgebrochen werden müssen.

Fall III. Vitium congenitum cordis (Pulmonalstenose). Intumescentia hepatis. B. W., 12 Jahre, Rebmannstochter. Aufgenommen 27. November 1906, entlassen 13. Januar 1907.

Die Eltern haben schon im zweiten Lebensjahr des Kindes gemerkt, dafs es nicht gesund war: Kurzatmigkeit bei geringsten Anstrengungen, sowie eine blaue Hautfarbe und Husten fielen auf. Schmerzen in der Herzgegend, die rechts ausstrahlen, bei Anstrengung. Schmerzen auch im oberen Teil des Bauches und im Kopf. Die Füfse sind nie geschwollen gewesen. Das Kind mufs fast alle Stunden Urin lassen, auch 3—4 mal nachts. Stuhlgang nur jeden zweiten Tag. Schlaf und Appetit gut.

Stat. präs. Kleines, in seiner Entwicklung stark zurückgebliebenes Kind, von sehr zartem Knochenbau und schwacher Muskulatur. Fast keine Paniculus adiposus. Haut zart, trocken von bläulich-rotem Farbenton über den ganzen Körper. Hochgradige Cyanose besonders der Lippen, der Wangen und der Nasenspitze, sowie der Finger- und Zehennägel. Stark ausgebildete Trommelschlägerfinger und -Zehen. Conjunctivae tief rot gefärbt. An den Augenlidern zahlreiche erweiterte Hautvenen. Zunge dunkelrot. Die Halsvenen treten stark hervor. Thorax lang, Epigastrumwinkel spitzig. Lungen normal. Herz nach rechts vergröfsert. Spitzenstofs im 6. Interkostalraum links ein wenig einwärts der Mam. Linj., wo auch ein systolisches Schwirren fühlbar ist. Über der ganzen Herzgegend ein lautes systolisches Geräusch (pfeifend), am stärksten hörbar im ersten und zweiten Interkostalraum links. Zweiter Pulmonalton sehr schwach, kaum hörbar. Die Leber überragt um einen Querfinger den Rippenbogen bis in die Medianlinie. Rand weich, gleichmäfsig. Milz nicht vergröfsert. Abdomen etwas gespannt. Radialpuls regelmäfsig, gut gefüllt, 85 Schläge in der Minute. Blutdruck (Riva-Rocci) 88 mm Hg. Urin gelb, klar, kein Zucker, zeitweise Spuren von Albumin. Temperatur normal. Rote Blutkörperchen 7 200 000 pro cbmm. Hämoglobin (Sahli-Gower) ca. 200. Stuhlgang regelmäfsig jeden zweiten Tag.

Die Gesamtzufuhr beträgt in diesem Versuche nur ca. 1300 bis 1400 Kalorien (netto). Obschon wir gewöhnlich rechnen, dafs der Ruhebedarf schon von 12 Jahren an etwa dem des erwachsenen Menschen gleichkommt, dürfte hier in Anbetracht des aufserordentlich niedrigen Körpergewichts des Versuchsobjektes die obige Menge, wenn auch nicht als übermäfsig, so doch als aus-

Fall III. Periode I. Eiweiß 64 g, Fett 40 g, Kohlehydrate 177 g. Kalorien (netto) 1313 = 55 Kal. pro kg. Auf 100 Kal. 27 Kal. = Fett und 53 Kal. = Kohlehydrate.

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen Gesamt-N in g	Ausgaben Harn Menge in ccm	Harn Sp. G.	Harn N in g	Fäces N in g	Fäces Fett in g	N-Bilanz	Bemerkungen
18. Dez. 1906	24,0	10,20	1041	1021	9,78	0,94	1,88	— 0,52	
19. » »		10,20	1020	1024	8,05	0,94	1,88	+ 1,63	Spuren von Albumin im Harn.
20. » »		10,20	1005	1030	8,03	0,94	1,88	+ 1,65	
21. » »		10,20	1460	1021	8,54	0,94	1,88	+ 0,72	
22. » »	25,8	10,20	1330	1018	9,15	0,94	1,88	+ 0,11	» » » » »
23. » »		10,20						Sa. + 3,59	Erkrankt in Angina tonsillaris.

Periode II. Eiweiß 61 g, Fett 86 g, Kohlehydrate 95 g. Kalorien (netto) 1395 = 56 Kal. pro kg. Auf 100 Kal. Fett = 55 Kal., Kohlehydrate = 27 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen Gesamt-N in g	Ausgaben Harn Menge in ccm	Harn Sp. G.	Harn N in g	Fäces N in g	Fäces Fett in g	N-Bilanz	Bemerkungen
4. Jan. 1907	24,8	9,80	790	1018	9,57	0,87	2,59	— 0,64	Seit 2 Tagen kein Fieber mehr. Pharynx und Tonsillen normal.
5. » »		9,80	675	1022	9,48	0,87	2,59	— 0,55	
6. » »		9,80	725	1021	10,01	0,87	2,59	— 1,08	Spuren von Albumin im Harn.
7. » »		9,80	620	1025	10,35	0,87	2,59	— 1,42	
8. » »	24,1	9,80	610	1029	10,01	0,87	2,59	— 1,08	
								Sa. — 4,77	

reichend bezeichnet werden können. Wir kommen auch mit diesem Quantum allenfalls in den beiden Perioden zu 54 resp. 56 Kalorien pro kg Körpergewicht. Wünschenswert wäre es gewesen, dafs sich die zwei Versuchsphasen auch hier unmittelbar aneinander angeschlossen hätten, was durch einen interkurrenten leichten Anfall von Angina tonsilloris unmöglich gemacht wurde.

Die Versuchszahlen zeigen auch hier in der Hauptsache dasselbe Ergebnis wie in den früheren Versuchen, indem sich auch in diesem Falle in der kohlehydratarmen zweiten Periode ein Stickstoffdefizit einstellt. Die täglichen Verlustziffern sind zwar nicht grofs, aber anderseits ist in diesem Versuche die noch restierende Kohlehydratmenge in der zweiten Periode auch proportionsweise etwas beträchtlicher als in den meisten übrigen Versuchen. Gegen ca. ein Fünfteil in jenem beträgt sie hier etwas mehr als ein Viertel der gesamten Zufuhr, wenn wir nach den Brennwerten rechnen. Fraglich bleibt es besonders in diesem Falle, wie weit nun die konstatierte ungünstige Beeinflussung des N-Stoffwechsels durch die relative Kohlehydratbeschränkung auf Rechnung des pathologischen Zustandes der Leber allein geführt werden darf. Im Vordergrunde steht in dem Krankheitsbilde die Zirkulationsstörung mit der starken Hyperglobulie. Als mitwirkende Ursache zum Entstehen von Anomalien in den intermediären Stoffwechselvorgängen konnten diese Momente schon in Betracht kommen.

Fall IV. Cirrhosis hepatis (Typus Laennec) Vitium cordis, Bronchitis chronica. P. E. 40-jähriger Arbeiter. Aufgenommen 6. Januar 1907. Tod 26. Januar 1907.

Als Kind und Jüngling immer gesund gewesen. War Soldat. Früher in Brauereigeschäft angestellt, hat er seit dieser Zeit ziemlich viel alkoholische Getränke genossen d. h. etwa 4 l Bier täglich und oft dazu noch Schnaps und Wein. In den letzten Jahren schwere Körperarbeit. Im Frühjahr 1906 begann Patient von Engigkeit auf der Brust zu leiden, woneben die Füfse geschwollen wurden. Nach ein paar Monaten Ruhe zu Hause hat er wieder arbeiten können. Vor 4 Wochen fangen die Füfse wieder zu schwellen an und das Gehen wurde sehr beschwerlich. Der Harn war oft dunkel, Stuhl regelmäfsig gewesen. Kein Erbrechen. Keine Leibschmerzen. Lues wird verneint.

Stat. präs. Kräftig gebauter Mann von gutem Ernährungszustand. Muskulatur doch relativ schlecht. Lippen cyanotisch, Skleren schwach

Fall IV. Periode I. Eiweiß 61—71 g. Fett 72 g. Kohlehydrate 357 g. Kalorien (netto) 2330—2286 = 29—28 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kalorien Fett = 27 Kal. Kohlehydrate = 61 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen	Ausgaben					N-Bilanz	Bemerkungen
			Harn			Fäces			
		Gasamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g		
9. Jan. 1907	79,8	11,43	1450	1014	7,27	0,57	3,90	+ 3,59	Alle Ödeme nach Digitalis
10. › ›		11,43	1630	1011	8,85	›	›	+ 2,01	vollständig verschwunden.
11. › ›		9,72	1380	1012	6,48	›	›	+ 2,67	
12. › ›	80,8	9,72	2210	1010	6,59	›	›	+ 2,56	Spuren von Albumin im
13. › ›		9,72	1545	1009	6,01	›	›	+ 3,14	Harn. Viel Husten. Klagt
14. › ›		9,72	1105	1013	7,29	›	›	+ 1,86	über Leibschmerzen.
15. › ›	81,5	9,72	1285	1011	7,65	›	›	+ 1,50	
								S. + 17,33	

Periode II. Eiweiß 63 g. Fett 158 g. Kohlehydrate 130 g. Kalorien (netto) 2223 = 27 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kalorien Fett = 64 Kal. Kohlehydrate = 24 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Gasamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g	N-Bilanz	Bemerkungen
16. Jan. 1907	81,1	10,10	1320	1013	8,25	0,86	3,70	+ 0,99	Keine Ödeme. Herz ar-
17. › ›		10,10	1110	1015	12,40	›	›	— 3,16	beitet gut.
18. › ›		10,10	970	1021	10,39	›	›	— 1,15	
19. › ›		9,83	1105	1020	10,62	›	›	— 1,38	
20. › ›	78,4	9,83	955	1024	13,10	›	›	— 3,86	Erkrankt in Erysipelas
21. › ›								S. — 8,56	fasciei. Tot 26. Jan.

ikterisch gefärbt. Gesichtsfarbe gelblich. Mittelstarke grobe Bronchitis, links hinten unten geringe Dämpfung. Das Herz ist nach links vergröfsert, man hört ein schwaches systolisches Geräusch an der Spitze. Zweiter Aortaton nicht akzentuiert. Abdomen etwas aufgetrieben. Kein Ascites. Leberdämpfung aufwärts bis VI. Rippe, unten bis 4 Querfinger unter Rippenbogen. Beim Palpieren fühlt sie sich hart an, mit nicht glatter Oberfläche. Unterer Rand ziemlich stumpf, hie und da eingeschnoren. Die Leber ist etwas druckempfindlich. Milz druckempfindlich, unbedeutend vergröfsert. Untere Extremitäten leicht geschwollen. Reflexe vorhanden. Puls etwas gespannt, 88 Schläge in der Minute, regelmäfsig. Arterie etwas hart. Blutdruck (R.-R.) 145 mm Hg. Urin hell, kein Eiweifs, kein Zucker, Stuhlgang regelmäfsig. Stuhl normal gefärbt. Appetit mäfsig.

Eine interkurrente Erysipelas fasciei hat hier den Tod des Patienten mitgeführt. Die Sektion bestätigt die Diagnose einer Laennecschen Schrumpfleber, im hypertrophischen Stadium. Sie ist vergröfsert, von ungemein derber Konsistenz, die Oberfläche fein gekörnt, zum Teil auch grob gekörnt. Die Schnittfläche zeigt reichliche weifsliche bindegewebige Bildungen mit spärlichen ockergelben Leberinseln. Stellenweise werden die Vena cava-Äste stark erweitert gefunden. Es wird sonst eine Concretio cordis cum pericardio, chronische Bronchitis mit Bronchiektasien, beginnende Schrumpfniere, chronische und akute Milztumor, sowie eine frische Gehirnblutung in dem linken Okzipitallappen konstatiert.

Zufolge der wenigen Efslust des Patienten gestaltet sich die Kalorienzufuhr in diesem Versuche etwas niedrig. Nichtsdestoweniger sehen wir, dafs in der ersten relativ kohlehydratreichen Periode eine nicht unbeträchtliche Stickstoffretention stattfindet. Beim Übergehen zu der kohlehydratarmen Kostanordnung der zweiten Periode, wo noch immer jedoch 130 g Kohlehydrate zurückbleiben, stellt sich nun aber auch hier wieder eine ungünstige Beeinflussung des N-Stoffwechsels ein, indem statt der früheren N-Aufspeicherung hier tägliche N-Verluste hervortreten. In fünf Tagen gehen rund 47 g Eiweifs verloren, wobei auch hier zu bemerken ist, dafs die Bilanz des ersten Tages noch von dem früheren Kostmafs beeinflufst ist und deswegen positiv ausfällt. Diese auch andererseits konstatierte N-Retention bei Fällen von Lebercirrhose werde ich gelegentlich der folgenden Versuche noch berühren.

Fall V. Cirrhosis hepatis. Neuritis alcoholica. H. R. 49 jähriger Giefser. Aufgenommen 13. Februar 1907.

Hat im Alter von 19 Jahren Lungen- und Brustfellentzündung durchgemacht. Seit 6—7 Jahren hat er an Körperkraft abgenommen, hat

Fall V. Periode I. Eiweiß 60—49 g. Fett 128 g. Kohlehydrate 114 g. Kalorien (netto) 1852—1805 = 32—31 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kalorien 63 Kal. Fett und 24 Kal. Kohlehydrate.

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen	Ausgaben					N-Bilanz	Bemerkungen
			Harn			Fäces			
		Gesamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g		
19. Febr. 1907	58,6	9,64	1475	1016	7,44	0,69	3,05	+ 1,51	Seit mehreren Tagen keine Ödeme mehr. Weniger Rasseln. Leber u. Milz unverändert.
20. » »		9,64	870	1019	8,01	»	»	+ 0,94	
21. » »		9,59	1065	1015	8,68	»	»	+ 0,22	
22. » »		9,05	1400	1013	8,92	»	»	— 0,56	Erbrechen morgens bei nücht. Magen.
23. » »	55,2	9,59	1050	1024	8,99	»	»	— 0,09	
24. » »		7,84	1025	1018	7,55	»	»	— 0,40	» »
25. » »		7,84	1025	1019	8,06	»	»	— 0,91	
26. » »		7,84	1130	1022	8,83	»	»	— 1,68	Erbrechen.
27. » »	53,8	7,84	1250	1018	8,98	»	»	— 1,83	
								S. — 2,80	

Periode II. Eiweiß 58—50 g. Fett 40 g. Kohlehydrate 289 g. Kalorien (netto) 1725—1689 = 32—31 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kalorien Fett = 20 Kal. Kohlehydrate = 66 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Gesamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g	N-Bilanz	Bemerkungen
28. Febr. 1907	53,9	9,33	2095	1009	7,89	1,03	2,80	+ 0,41	Kopfschmerzen. Migränin. Koffein.
1. März 1907		9,33	1875	1016	7,61	»	»	+ 0,69	
2. » »		9,33	1300	1012	6,84	»	»	+ 1,26	
3. » »		9,33	1255	1017	6,40	»	»	+ 1,90	
4. » »	54,3	7,92	1320	1019	6,87	»	»	+ 0,02	In den letzten Tagen wieder morgens nüchtern Erbrechen gehabt.
5. » »		7,92	1420	1011	5,98	»	»	+ 0,91	
6. » »		9,33	1255	1015	7,95	»	»	+ 0,35	
7. » »		9,33	1455	1013	7,95	»	»	+ 0,35	Die neuralgischen Schmerzen haben etwas nachgelassen.
8. » »		9,33	1360	1012	7,46	»	»	+ 0,84	
9. » »	55,9	9,33	1240	1013	7,55	»	»	+ 0,75	
								S. + 7,48	

Schwäche in den Beinen, sowie Kurzatmigkeit beim Gehen verspürt. Auch die Arme sind schwach geworden; es besteht oft ein Gefühl von Kriebeln in ihnen. Seit 2 Jahren sind die Füfse und Unterschenkel sowie der Leib mehrmals geschwollen gewesen. Ist früher vom 23. Juni bis 30. Juni 1906 sowie vom 28. Aug. bis 12. Nov. 1906 in der Klinik unter der gleichen Diagnose aufgenommen gewesen. Die jetzige Verschlimmerung des Zustandes datiert vom Januar 1907. In der letzten Zeit viel Schmerzen in den Beinen. Grofse Mattigkeit. Stuhlgang ist unregelmäfsig gewesen. Appetit mäfsig. Trinkt gewöhnlich täglich 2—3 l Bier und etwas Schnaps. Lues wird verneint.

Stat. präs. Mittelgrofser Mann von ziemlich schlechtem Ernährungszustand. Haut nicht ikterisch, trocken, Schleimhäute normal. Gesicht errötet, etwas cyanotisch. Leichter Nystagmus horizontalis. Zittern der Zunge. Zittern der vorgestreckten Hände. Lungengrenzen normal, Atmung vesikulär, mit zahlreichen mittelblasigen feuchten Rasseln unten links. Leichte Hypertrophie des linken Herzens. Töne leise. Abdomen hart. Jetzt kein Ascites. Leber vergröfsert, hart, nicht ganz glatt, etwa 3 Querfinger breit unter dem Rippenbogen fühlbar. Milz vergröfsert. Die Füfse im Tibiotorisalgelenk leicht geschwollen. Patellarreflexe vorhanden. Puls regelmäfsig, schlecht gefüllt, 92 Schlag in der Minute. Blutdruck (R-R.) 90 mm Hg. Urin ohne Eiweifs und Zucker. Stuhl normal gefärbt. Temperatur normal. Klagt über Kopfschmerzen sowie über reifsende Schmerzen in den Ober- und Unterschenkeln. Wadenmuskeln druckempfindlich.

Die Anordnung des Versuches weicht in Fall V insoweit von den übrigen ab, als hier die kohlehydratarme Periode vorangeht, aber sonst sind die Bedingungen auch hier die gleichen wie früher. Wie die Tabelle zeigt, stellt es sich heraus, dafs auch in diesem Falle die gewöhnliche Kost (Periode II) eine N-Retention veranlafst, dafs die letztere bei beschränkter Zufuhr von Kohlehydraten (Periode I mit 113,6 g Kohlehydrate täglich) aber vermifst wird, indem hier eine Tendenz zu erhöhter Stickstoffausscheidung allmählich zutage tritt. Gleich markant wie in dem Falle IV ist die verschiedene Beeinflussung des Stickstoffwechsels durch die eine oder andere Kostanordnung jedoch nicht hier.

Eine beträchtliche Stickstoffretention zeigt auch der folgende Versuch bei einem Falle von Lebercirrhose mit Herzfehler. Die Untersuchung konnte deswegen nicht vollständig durchgeführt werden, weil der sehr unruhige Kranke das Krankenhaus zu frühzeitig verliefs.

Fall VI. Cirrhosis hepatis. Vitium cordis. L. V. 40jähriger Friseur. Aufgenommen 1. Febr. 1907. Weggegangen 9. Febr. 1907.

Als Kind Masern und Gelenkrheumatismus. Nach dem letzten Herzbeschwerden bekommen. Im Alter von 18 Jahren wieder einen Anfall von Gelenkrheumatismus gehabt. 4 Jahre später Lungenentzündung. Gonorrhoe. Vor 5 Jahren häufig Schwindel und Übelkeitsanfälle, z. T. mit Blutbrechen. 1904 Gelbsucht und Diarrhöe gehabt. Leib ist geschwollen gewesen. 27. Mai bis 1. Juli 1905 in der Klinik gelegen mit Diagnose: Cirrhosis hepatis. Leidet an Schwermutsanfällen. Suicidiumversuche. Seit mehreren Jahren viel Alkohol genossen.

Stat. präs. Mittelgrofser Mann von mäfsigem Ernährungszustand. Leidend aussehend, sehr unruhig. Tremor in den Händen. Haut schwach bläulich. Kein Ikterus. Keine Ödeme. Lungen normal. Herz rechts und links vergröfsert. Spitzton im 5. Interkostalraum in der Mam.-Linie. An der Spitze ein lautes präsystolisches Geräusch. Erster Ton schwirrend. Zweiter Aortaton akzentuiert. Leib weich, kein Ascites. Leber deutlich palpabel, klein, derb mit abgerundetem Rande. Milz grofs, sehr leicht fühlbar. Puls gespannt, unregelmäfsig, 72 Schläge in der Minute. Blutdruck (R. R.) 140 mm Hg. Radialarter geschlängelt, etwas hart. Urin dunkel mit Spuren von Albumin, kein Zucker. Temperatur normal. Schlaf sehr schlecht.

Fall VI. Eiweifs 83 g. Fett 76 g. Kohlehydrate 348 g. Kalorien (netto) 2381 = 33 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kalorien 28 Kalorien Fett und 58 Kalorien Kohlehydrate.

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen	Ausgaben					N-Bilanz	Bemerkungen
			Harn			Fäces			
		Gesamt-N in kg	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g		
4. II. 07.	72,8	13,25	1755	1016	13,70	0,82	3,50	— 1,27	Abends Veronal.
5. » »		»	1855	1015	11,63	»	»	+ 0,80	Urin frei von Albumin.
6. » »		»	1990	1014	9,41	»	»	+ 3.02	
7. » »		»	1430	1015	8,70	»	»	+ 3,73	
8. » »	73,7	»	1425	1012	8,95	»	»	+ 3,48	
								S. + 9,76	

Ich lasse schliefslich hier noch einen unter gleichen Bedingungen wie in den übrigen Fällen ausgeführten Versuch folgen, welcher an einem bezüglich seiner Leber als vollständig normal zu bezeichnenden Mann angestellt wurde.

Fall VII. K. R. 18jähriger Metzger. Aufgenommen 27. Dez. 1906. Entlassen 6. Febr. 1907.

Hereditär nicht bemerkenswert. Als Kind Röteln gehabt. Vor vier Jahren hat Patient die hiesige Ambulanz besucht und wurde die Diagnose da auf Morbus Addisoni gestellt. War mehr als ein Jahr in Behandlung und hat sich darnach gesund gefühlt. Die braune Verfärbung der Haut hat nachgelassen und die Kräfte sind wieder gut geworden. Ende Oktober dieses Jahres merkte Patient, dafs er nicht mehr gut schlucken konnte. Flüssige Speisen regurgitierten oft durch die Nase. Daneben hat sich Schwindel, zeitweise mit Kopfschmerzen eingestellt. Kann nicht bestimmt angeben, ob eine Halskrankheit den Beschwerden vorangegangen ist. In letzter Zeit sind die Beschwerden im Rückgang begriffen gewesen. Lues und Potus werden verneint. Wegen Schluckbeschwerden trinkt der Kranke sehr wenig.

Stat. präs. Kräftiger junger Mann in gutem Ernährungszustande. Muskulatur gut entwickelt. Haut etwas trocken von bräunlicher, den ganzen Körper gleichmäfsig einnehmender Verfärbung. Keine Ödeme, kein Ikterus, keine Exantheme oder Drüsenschwellungen. Keine Augenmuskel- oder Pupillenstörungen. Gesichtsfeld normal. Die Schleimhaut des Mundes und des Rachens blafs. Der Wurzelreflex ist links lebhaft, rechts nicht auslösbar. Keine Pigmentierung an Zunge und Gaumen. Lungen und Herz normal. Keine Druckempfindlichkeit an Abdomen. Leber und Milz normal. Urin frei von Eiweifs und Zucker. Puls regelmäfsig, 60—70. Periphere Arterien weich. Blutdruck (R-R.) 110 mm Hg. Allgemeiner Kräftezustand sowie Appetit gut. Darmfunktion normal. Am Nervensystem nichts Besonderes.

Auffallend ist in diesem Falle die Kleinheit der täglichen Harnausscheidung und die starke Konzentration des Harns. Ein spezifisches Gewicht, welches Ziffern von 1,034—1,036 erreicht, ohne dafs Zucker vorhanden gewesen wäre, gehört doch zu den grofsen Seltenheiten. Die Unfähigkeit des jungen Mannes, jedes Getränk und alle fliefsenden Speisen herunterzubringen, führt es mit sich, dafs die Konzentrationskraft der Nieren hier in exzessivem Grade herangespannt wird. Auf die Rechnung einer ungenügenden Durchspülung mufs hier mit aller Wahrscheinlichkeit auch der Umstand gesetzt werden, dafs einzelne Tage in diesem Falle auffallende Unregelmäfsigkeiten in der Bilanz aufweisen.

Wenden wir uns nun den Versuchsziffern zu, so sehen wir, dafs bei diesem Menschen mit normaler Leber bei Reduktion der Kohlehydrate in der Nahrung eine ähnliche Einwirkung auf den Eiweifsumsatz nicht besteht, wie in den pathologischen

Fällen. Bei der gewöhnlichen Kost der Periode I ist im grofsen und ganzen Stickstoff-Gleichgewicht vorhanden. Als die Kohlehydrate in der Periode II eingeschränkt wurden, etwa in demselben Verhältnis (täglich 114 g) wie vorher bei den früher angeführten Versuchen, stellt sich zwar auch hier, wie immer gefunden wurde, erst eine unvorteilhafte Einwirkung auf die Stickstoffbilanz ein, aber sie hat hier einen vorübergehenden Charakter ohne eine Tendenz zum Fortbestehen oder Zuwachsen. In Summa zeigen die 12 Tage dieser Periode ein Stickstoffminus von nur 0,37 g. Es mögen vielleicht die Besonderheiten der Ausscheidungsverhältnisse durch die Nieren bewirken, dafs nach der Kohlehydratverminderung hier dies erst am dritten Tage in der Bilanz zum Vorschein kommt. Ich gebe zu, dafs der Versuch zufolge der erwähnten Umstände vielleicht hätte glücklicher gewählt werden können. Anderseits steht der Befund in gutem Einklang mit den früher gemachten Versuchen an gesunden Menschen.

Bei der Besprechung der Versuchsergebnisse stellen sich hier erst einige andere Fragen ein, die an der Hand der vorliegenden Beobachtungen beurteilt werden können. Ruft Ikterus an sich toxogenen Eiweifszerfall hervor? Theoretisch liegt es ja, wie Weintraud[1]) hervorhebt, nahe, eine solche Vermutung vorauszusetzen, da bekanntlich die Gallensäuren als Protoplasmagifte wirken, indem sie z. B. erythrolytische Eigenschaften besitzen.

In der Literatur liegen recht wenige Untersuchungen an ikterischen Kranken vor und besonders sind die exakten Stoffwechselanalysen in dieser Hinsicht spärlich. Die Daten hierüber sind von Weintraud zusammengestellt und zeigen, dafs in den meisten Fällen von einfachem Ikterus die Stickstoffbilanz nicht gestört ist.

Von meinen Fällen sind drei für die betreffende Frage verwertbar, namentlich Fall I mit ausgesprochenem Ikterus

1) Einflufs des Ikterus auf den Eiweifsumsatz. v. Noordens Handbuch der Pathol. des Stoffwechsels, 1906, Bd. I, 748.

Fall VII. Periode I. Eiweifs · 73—77 g. Fett 59 g. Kohlehydrate 262 g. Kalorien (netto) = 1848 = 32 Kal. pro kg Körpergewicht. Auf 100 Kalorien Fett = 27 Kal. Kohlehydrate 56 Kal. (Verzehrt keine fliefsenden Speisen.)

Datum	Körpergewicht in kg	Einnahmen	Ausgaben					N-Bilanz.	Bemerkungen
			Harn			Fäces			
		Gesamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g		
8. Febr. 1907	57,0	11,63	340	1033	10,10	1,80	4,80	— 0.27	
9.		11,63	425	1032	9,02	›	›	+ 0,81	
10.		11,63	405	1034	9,49	›	›	+ 0,34	
11.		12,32	395	1035	6,81	›	›	+ 3,72	
12. ›		12,32	415	1031	14,91	›	›	— 4,39	
13. ›		12,32	680	1034	12,73	›	›	— 2,21	
14. ›	58,2	12,32	850	1030	9,40	›	›	+ 1,12	
								S. — 0,98	

Periode II. Eiweifs 72 g. Fett 126 g. Kohlehydrate 114 g. Kalorien (netto) 1878 = 32 Kal. pro kg. Körpergewicht. Auf 100 Kalorien Fett = 60 Kal. Kohlenhydrate = 23 Kal.

Datum	Körpergewicht in kg	Gesamt-N in g	Menge in ccm	Sp. G.	N in g	N in g	Fett in g	N-Bilanz.	Bemerkungen
15. Febr. 1907	58,3	11,50	695	1025	8,18	1,18	4,30	+ 2,14	
16.		›	465	1035	9,80	›	›	+ 0,52	
17.		›	500	1031	11,95	›	›	— 1,63	
18.		›	535	1032	10,65	›	›	— 0,33	
19. ›		›	505	1032	11,43	›	›	— 1,11	
20. ›		›	885	1030	11,14	›	›	— 0,82	
21. ›	57,9	›	490	1036	10,42	›	›	— 0,10	
22. ›			640	1030	10,77	›	›	— 0,45	
23. ›		›	505	1034	7,01	›	›	+ 3,31	
24. ›		›	590	1032	12,62	›	›	— 2.30	
25. ›		›	310	1034	9,67	›	›	+ 0.65	
26. ›	58,5	›	430	1035	10,57	›	›	— 0,25	
								S. — 0,37	

(catarrhalis), Fall II mit gravem Ikterus bei Cholelithiasis und Fall IV mit nur sehr schwachem Ikterus bei Cirrhosis hepatis. Wir finden, dafs unter diesen drei Fällen von Ikterus von sehr wechselnder Stärke nur der Kranke mit Icterus catarrhalis einen wahren toxogenen, von der Diät nicht abhängigen Zerfall von Körpereiweifs aufweist. Im Anfangsstadium der Krankheit sind hier N-Verluste, die bis 3,5 à 4 g pro Tag steigen, gefunden! Allerdings war während dieser Tage eine leichte Steigerung der Körpertemperatur vorhanden, ohne dafs irgendeine Komplikation hierfür verantwortlich gemacht werden konnte. Wahrscheinlich ist also der Ikterus infektiöser Natur und dieses Moment für die abnorme Eiweifszersetzung verantwortlich zu machen. Auch unsere Beobachtungen zeigen also, dafs auch starker Ikterus keineswegs einen toxogenen Zerfall von Körpereiweifs bewirken darf und wahrscheinlich nicht bewirkt. Nur mufs immer darauf geachtet werden, dafs nicht gleichzeitig ein infektiös fieberhafter Zustand vorliegt.

Das Vorhandensein eines Zeitabschnittes mit pathologischem Eiweifszerfall im Verlaufe des Icterus catarrhalis in einigen Fällen gewährt uns einen Anhaltspunkt zum tieferen Eindringen in die Semiologie dieses Krankheitsbegriffes. Da wir auch von klinischer Seite in mehreren Fällen, z. B. in der Beschaffenheit und dem Aussehen der Fäces die Zeichen einer einfachen totalen Absperrung des Gallenabflusses zu dem Darm vermissen, mufs dies oben konstatierte Ergebnis der Stoffwechselanalysen noch weiter zur Befestigung der Ansicht beitragen, dafs unter dem Bilde des sog. »Icterus catarrhalis« pathogenetisch verschiedene Zustände eingeräumt sind. Kommen wahrscheinlich auch Fälle vor, wo eine Zuschwellung des ductus choledochus eine wahre Gallenstauung mit Ikterus bewirkt, und wo somit die klassische Auffassung zu Recht besteht, so können wir in anderen Fällen kaum anders als durch das Annehmen einer akuten infektiösen oder toxogenen Hepatitis uns alle die pathologischen Erscheinungen verständlich machen.

In mehreren Bearbeitungen ist schon die Frage studiert worden, welchen Einflufs die Lebercirrhose auf den

N-Umsatz ausübt. Es scheint sich hierbei herausgestellt zu haben, dafs in dieser Hinsicht fast durchgehend ein wesentlicher Unterschied besteht, nachdem es sich entweder um eine Cirrhose von Laennecschem oder Hanotschem Typus handelt. Man hat gefunden, dafs bei letzterer eine protoplasmaschädigende Wirkung angenommen werden darf, da mitunter abnorme Eiweifszersetzung hier vorkommt, wogegen die Untersuchungen bei Laennecscher Cirrhose fast immer Stickstoffgleichgewicht oder Stickstoffansatz ergeben haben. So fand Bierens de Haan[1]) gesteigerten Eiweifszerfall nur in einem mit chronischem Ikterus einhergehenden Fall von Lebercirrhose, wogegen vier andere untersuchte Fälle ohne solchem (Laennecscher Typus) Stickstoffgleichgewicht oder -Ansatz zeigten. Von Fawitzkys Kranken mit atrophischer Cirrhose gaben fünf Stickstoffretention und einer vorübergehende, geringe Stickstoffverluste und auch in den Untersuchungen von Calabrese sowie Marischler und Ozorkiewicz, welche alle Fälle von atrophischer Cirrhose betrafen, wird N-Retention verzeichnet.

Auch ein Fall von atrophischer Cirrhose, welchen Münzer untersuchte, zeigte bedeutende Stickstoffretention. Desgleichen ergaben aber zwei weitere Fälle mit hypertrophischer Leber und Ikterus bei ihm auch positive N-Bilanzen. Ascoli bezweifelt aber wegen dieses Ausschlags der Stoffwechselanalyse, dafs es sich in Münzers letzterwähnten Fällen wirklich um Cirrhosen des Hanotschen Typus gehandelt hat. Ascoli selbst fand in einem Falle von Laennecscher Cirrhose stets recht ansehnliche positive Stickstoffbilanzen, wogegen sein Fall von Hanotscher Cirrhose N-Verluste gab. Es steht, wie wir sehen, einer vollständig einwandfreien Beurteilung der Ergebnisse dieser Versuche der Umstand entgegen, dafs es mitunter recht schwierig ist, anders als beim Sektionstische abzumachen, ob eine Cirrhose des einen oder anderen Typus vorgelegen ist.

Meine hier untersuchten drei Fälle von Lebercirrhose zeigen alle bei etwa 30 Kalorien pro kg täglich und ca. 60 % der ge-

1) Vgl. Weintraud, Einflufs der Lebercirrhose auf den Stoffwechsel, a. a. O., S. 790.

samten Kalorien in Form von Kohlehydraten (Eiweifs 60—80 g) positive N-Bilanzen. In Fall IV wird in sieben Tagen 17,33 g N zurückgehalten, in Fall V 7,48 g in zehn Tagen und in Fall VI ebenso 9,76 g in fünf Tagen. Durchschnittlich würden somit 5—15 g Eiweifs täglich im Körper reteniert werden in diesen Fällen bei gewöhnlicher Kost. In diesen sämtlichen Fällen war die Leber vergröfsert und Ascites hat wenigstens während der Zeit des Aufenthaltes im Krankenhaus gefehlt. Im Fall IV ist die Diagnose einer Schrumpfleber durch die Sektion bestätigt, in diesem Falle bestand auch leichter Ikterus. Im Fall V macht die derbe, etwas unebene Oberfläche der Leber beim Palpieren ebenfalls das Annehmen einer Cirrhose des Laennecschen Typs höchst wahrscheinlich. Im Fall VI blieb die Diagnose der Form der Cirrhose unsicher, doch bin ich geneigt, auch in diesem Fall eine Cirrhose der Laennecschen Form vorauszusetzen, wahrscheinlich mit Stauungshyperämie kombiniert. Ich möchte nach meinen Resultaten somit auch dafür halten, dafs Stickstoffretention bei der Laennecschen Cirrhose die Regel ist.

Stickstoffretentionen wie solche bei Kranken mit cirrhotischer Leber sind ja auch, oft von noch beträchtlicherem Grade, bei schwer kachektischen Individuen nicht selten. Sie sind z. B. bei Karzinomkranken bekanntlich oft gefunden worden. Wir sind nicht berechtigt, dieselben als Fleischansatz zu betrachten, denn hiergegen sprechen die sonstigen objektiven und subjektiven Befunde bei den Kranken. In meinen Fällen kommt auch die Rolle einer Ascitesbildung in Wegfall, wozu das im Körper gebliebene Überschufseiweifs gerade bei Schrumpflebern vielleicht in einzelnen Fällen sonst verwertet wird. Welche Bedeutung hat dann diese Stickstoffretention, die oft eine recht ansehnliche Höhe erreicht? Wir müssen wohl uns vorläufig mit der schon mehrfach angeführten Erklärung begnügen, dafs der kranke Organismus hier nicht das eingeführte Eiweifs normal abzubauen vermag, und dafs es darum zu einer Zurückhaltung von Stoffwechselprodukten kommt. Es fragt sich aber, ob unter solchen Verhältnissen nicht durch eine Eiweifs sparende Diät eine keineswegs vorteilhafte Belastung des Körpers hervorgerufen wird.

Man hat von einer tox-alimentären Dyspnoe in Zuständen mehrerlei Organinsufficiens gesprochen. Leider fehlt es uns an Methoden, um nachzuweisen, wann wirklicher Eiweifsansatz und wann eine solche Schlackenanhäufung stattfindet.

Wir kommen so zu dem Hauptgegenstand dieser Versuche, nämlich der Beeinflussung des Eiweifsumsatzes durch Fett und Kohlehydrate bei pathologischen Zuständen der Leber. Es zeigt sich, dafs in sämtlichen hierauf untersuchten Fällen mit krankhafter Leberfunktion Abweichungen von der Norm bestehen, indem hier erst bei Gegenwart von mehr Kohlehydrate, als physiologisch sich berechnen liefse, das Körpereiweifs vor Zerfall geschützt wird.

Natürlich ist dies nur unter den schon anfangs gemachten Reservationen gültig, da wir einerseits vielleicht auch normale Unterschiede in dem kleinsten Kohlehydratbedürfnis voraussetzen dürfen und anderseits vergleichende Stoffwechseluntersuchungen, die nicht an derselben Person ausgeführt werden können, doch immer mit einer gewissen Reserve betrachten müssen, auch wenn die Voraussetzungen sonst möglichst gleichförmig gewählt sind.

Die Kohlehydratmengen in den Perioden mit beschränkter Zufuhr belaufen sich in den sechs betreffenden Versuchen zu 95—130 g oder kaloristisch zu 20—27 % der eingeführten gesamten Energiemenge. Es sind somit ungefähr doppelt so viel Kohlehydrate in meinen Versuchen verabreicht worden, als nach Landergren und Rosenfeld als physiologisches Minimum erforderlich wäre.

Betrachten wir zuerst die N-Bilanzen des Versuches VII an dem lebergesunden Menschen, so geht hervor, dafs bei derselben Anordnung des Versuches im übrigen eine Einschränkung des täglichen Kohlehydratquantums in der Kost bis zu 114 g hier nur eine passagere Beeinflussung des Stickstoffumsatzes bewirkt, indem schon vom ersten Auftreten eines Minus in der N-Bilanz an ein Streben nach Gleichgewicht sich geltend macht. Auch sind die N-Verluste hier relativ unbedeutend. Das Verhältnis

ist nun entschieden ein anderes, besonders in einigen der pathologischen Fälle.

Am prägnantesten tritt die unvorteilhafte Beeinflussung des Stickstoffwechsels durch die reduzierte Kohlehydratmenge in den Fällen I (Icterus catarrhalis), II (Icterus gravis, Cholelithiasis) und IV (Cirrhosis hepatis) hervor. Bei etwa 30 Kalorien pro kg und resp. 95, 105 und 130 g Kohlehydrate' in der täglichen Nahrung treten, nachdem früher N-Gleichgewicht oder N-Retention bestanden hat, hier N-Verluste hervor, die in den drei Fällen durchschnittlich Werte von resp. 4,1, 3,6 und 2,8 g pro Tag erreichen. Auch in den Fällen III und V ist das Ergebnis im Prinzip dasselbe, denn wir können auch in diesen fast mehr eine Tendenz zum Anwachsen als zum Ausgleichen der negativen N-Werte in der Bilanz konstatieren. Bemerkt sei, dafs, so weit es aus den Versuchen beurteilt werden kann, die kohlehydratarmen Perioden im allgemeinen auch von einem Abnehmen des Körpergewichtes begleitet worden sind.

Die anfangs aufgeworfene Frage läfst sich nach den Ermittelungen dieser Versuche somit in positivem Sinne beantworten, indem es sich herausstellt, dafs bei mehreren pathologischen Zuständen der Leber Unterschiede bestehen insoweit, als der Organismus hier mehr Kohlehydrate als normal erfordert, um sich die zugeführten Fettmengen durch Verbrennung nützlich machen zu können. Fehlt die nötige Kohlehydratmenge, so tritt eine Mehrzersetzung von Eiweifs in der Form von Körpereiweifs ein. Gegenüber dem normalen Organismus ist die gefundene Abweichung aber rein quantitativer Natur, was nicht weiter hervorgehoben werden darf und wie auch nicht anders erwartet werden kann.

Liegen Gründe vor, die uns berechtigen, in dem oben gefundenen Umstand etwas für die Leberkrankheiten und die Gallenstauung Charakteristisches zu erblicken? Erst weitere systematische Untersuchungen an einem grofsen Krankenmaterial können uns hierüber eine sichere Antwort geben. Ich bin jedoch geneigt anzunehmen, dafs dies nicht das Verhältnis sei, sondern dafs es sich im Gegenteil herausstellen soll, dafs uns

ein ähnliches Ergebnis auch bei mehreren anderen pathologischen Zuständen, wie z. B. bei akuten oder chronischen Infektionen, in der Rekonvaleszenz nach erschöpfenden Krankheiten usw. begegnen wird. Es mufs dies als wahrscheinlich erscheinen, wenn wir mit Landergren annehmen, dafs es in erster Linie der Glykogenvorrat des Körpers ist, welcher in der fraglichen Hinsicht ausschlaggebend ist, und von diesem Gesichtspunkte aus werden die Ergebnisse meiner Versuche sicher auch am einfachsten ihre Erklärung finden.

Es würde zu weit führen, hier die Frage nach der Glykogenmästung der Leber bei verschiedenen pathologischen Zuständen zu erörtern. So weit können wir allenfalls unsere Kenntnisse in diesen Dingen als festgestellt ansehen, dafs die kranke Leber und insbesondere die Gallenstauung einer gleich starken Glykogenanhäufung wie im gesunden Organ entgegenwirkt. Die meisten klinischen und experimentellen Wahrnehmungen stimmen hierin gut überein. Es ist zwar die Glykogenbildung an sich nicht aufgehoben auch bei weit vorgeschrittenen Veränderungen der Leber, aber ein Ansatz in gewöhnlichem Umfang findet nicht mehr statt, und wenn nun auch Glykogen sich anderswo im Körper vorfindet als in der Leber, ist doch die Menge in der letzteren für den ganzen Körpervorrat entschieden mafsgebend. Diese Störung der Glykogenie vermittelt uns aber höchst wahrscheinlich die Tatsache, dafs bei Leberaffektionen mehr Kohlehydrate als sonst mit der Kost eingeführt werden müssen, um einen ungestörten Stoffwechsel des Eiweifses zu sichern.

Schlufsfolgerungen.

Ikterus, auch hohen Grades, braucht toxogenen Eiweifszerfall nicht hervorzurufen. Wo solcher, wie z. B. in Fällen von Icterus catarrhalis mitunter wahrgenommen wird, ist es mehr Anleitung denselben von infektiös-toxischen Prozessen direkt herzuleiten, welche den zur Gallenstauung führenden Veränderungen zugrunde liegen. Eine akute Hepatitis wird als die wahrscheinliche Ursache einer Anzahl von Fällen von sogenanntem »Icterus catarrhalis« angenommen.

Bei der Laennecschen Cirrhose scheint unter gewöhnlichen Verhältnissen eine mehr oder minder hochgradige Stickstoffretention zur Regel zu gehören.

Bei mehreren Formen von Leberstörungen (Icterus catarrhalis, Cirrhosis hepatis, Cholelithiasis mit Ikterus, Stauungsleber) sind relativ gröfsere Mengen von Kohlehydraten in der Nahrung erforderlich, um eine regelrechte Fettverbrennung ohne gleichzeitigen Zerfall von Körpereiweifs zu sichern, als diejenige womit, nach vergleichenden Untersuchungen zu urteilen, der gesunde Organismus sich auszuhelfen scheint. Es dürfte das von einer Verarmung des Körpers an Glykogen in den betreffenden pathologischen Fällen abhängen.

Bei Stoffwechseluntersuchungen an kranken Menschen mufs letzterem Umstande Aufmerksamkeit geschenkt werden, da durch eine unvorteilhafte Zusammensetzung der Kost mitunter sonst toxogener Eiweifszerfall unrichtigerweise vorgetäuscht werden könnte.

Beitrag zur Frage der Identität des Meningococcus (Weichselbaum) und des Diplococcus intracellularis (Jaeger) mit besonderer Berücksichtigung der Agglutinationsverhältnisse dieser beiden Diplokokkenarten.[1]

Von

Dr. **Fischer,**
Assistenten der Abteilung.

(Aus der hygienischen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg. Vorstand: Prof. Dr. Bonhoff.)

Die Frage, ob der im Jahre 1887 von Weichselbaum bei mehreren sporadischen Meningitisfällen gefundene und jetzt von der Mehrzahl der Autoren für den Erreger der epidemischen Genickstarre erklärte Diplokokkus wesensgleich sei mit dem 1895 von Jaeger genauer beschriebenen Diplokokkus, ist besonders zur Zeit der letzten oberschlesischen Genickstarreepidemie wieder lebhaft ventiliert worden. Diese Epidemie hatte zur Folge, dafs man auch auf die sporadisch überall vorkommenden Fälle wieder mehr sein Augenmerk richtete und auch die Bakteriologen dabei zu Untersuchungen heranzog, so dafs die Literatur über den mutmafslichen Erreger der epidemischen Genickstarre und die Frage, ob der von Weichselbaum und der von Jaeger gefundene Diplokokkus ein und dasselbe Individuum

1) Nach einem im ärztlichen Verein zu Marburg am 19. Dezember 1906 gehaltenen Vortrage.

in zwei verschiedenen Typen darstelle, einen sehr erheblichen Umfang annahm.

Es kann hier nun nicht meine Aufgabe sein, in eine Erörterung über den Erreger der epidemischen Genickstarre einzutreten, da es mir an persönlicher Erfahrung — und diese kann nur in einem Epidemiebezirke und bei reichlichem Beobachtungsmaterial gewonnen werden — mangelt. Nach den in der Literatur niedergelegten sehr eingehenden Untersuchungen (v. Lingelsheim[1]), Jochmann[2]) u. a.) ist es aber heute wohl nicht mehr als zweifelhaft anzusehen, dafs der von Weichselbaum beschriebene Diplokokkus für die Ätiologie der epidemischen Genickstarre ausschliefslich in Betracht kommt, ein Faktum, welches jetzt auch als das Hauptergebnis der im ministeriellen Auftrage ausgeführten Untersuchungen gelten kann (Kirchner).[3])

Die ätiologische Bedeutung, welche der Meningokokkus, wie ich den Weichselbaumschen Diplokokkus der Kürze halber nennen will, hat, erkennt auch Jaeger an, er behauptet aber, neben dem äufserst fragilen, schwer züchtbaren, streng gramnegativen Meningokokkus komme noch ein resistenterer Typus vor, welcher sich dem Nährboden allmählich anpasse, leichter fortzüchtbar sei und der Gramschen Färbung gegenüber sich positiv verhalte. Besonders diese letztere Eigenschaft des Diplokokkus Jaeger war es, welche gleich nach dem Bekanntwerden der Jaegerschen Beobachtungen einen Meinungsaustausch hervorrief, der bis heute andauert. Es ist ja auch nicht gleichgültig, wenn ein bisher erprobtes und überall anerkanntes Färbeverfahren, welches uns das Erkennen einer grofsen Reihe von Bakterien erleichtert, ja auf welchem sozusagen ein Einteilungssystem beruht, einfach über den Haufen geworfen werden soll. Denn etwas anderes ist es doch nicht, wenn Jaeger den Meningokokkus, nachdem er sich dem künstlichen Nährboden angepafst hat, allmählich völlig grampositiv werden läfst. Die Richtigkeit eines solchen

1) Klin. Jahrbuch, Bd. XV, 1906, Heft 2.
2) Deutsch. med. Wochenschr., 1906, Nr. 20.
3) Klin. Jahrbuch, Bd. XV. 1906, Heft 4.

Verhaltens wäre ein Novum in der Bakteriologie. Tatsächlich sind Jaegers Angaben von verschiedenen Seiten bestätigt worden (ich nenne von neueren Beobachtern Salge[1]), Weyl[2]), Sorgentz[3]), Wollenweber[4]), Kob[5])). Ein Teil dieser Autoren macht die verschiedene Zusammensetzung der Nährböden für dieses Verhalten verantwortlich. Den oben zitierten Autoren steht nun eine Reihe anderer gegenüber, welche für den Meningokokkus ein streng gramnegatives Verhalten in Anspruch nehmen, sowohl bei frischen, als auch bei älteren Kulturen (die neuesten Arbeiten rühren her von Kolle und Wassermann[6]), Manteufel[7]), Jochmann[8]), Kutscher[9])). Weichselbaum[10]) spricht dem Diplokokkus Jaeger wegen seines grampositiven Verhaltens jede ätiologische Bedeutung für die epidemische Genickstarre ab; Schottmüller[11]) erklärt ihn für einen Saprophyten und nicht, wie Jaeger will, für eine Varietät des Meningokokkus. Kutscher[12]) endlich hält ebenso wie Flügge[13]) die Kulturen, welche ein grampositives Verhalten zeigen, für unecht oder verunreinigt.

Wir verfügen im Marburger Institut zwar nur über einige wenige Meningokokkenstämme; diese sind aber trotz zum Teil jahrelanger Fortzüchtung bei unserer Gram-Färbemethode stets gramnegativ geblieben und haben auch im übrigen alle ihre Merkmale bewahrt. Wenn eine Bakterienart ihr Verhalten der Gramfärbung gegenüber so leicht wechselt, so könnte man doch

1) Deutsche med. Wochenschrift, 1905, Nr. 22, Vereinsbeilage.
2) Jahrb. f. Kinderheilkunde, Bd. XI, Heft 2.
3) Zentralbl. f. Bakt., Bd XXXIX, Heft 1.
4) Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 29, Vereinsbeilage.
5) Charité-Annalen, Jahrg. XXIX., S. 252.
6) Klin. Jahrbuch, Bd. XV, 1906, Heft 2.
7) Münch. med. Wochenschr., 1906, Nr. 43.
8) Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 20.
9) Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 27.
10) Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 38.
11) Münch. med. Wochenschr., 1905, Nr. 34/36.
12) a. a. O.
13) Klin. Jahrbuch, Bd. XV, 1906, Heft 2.

mit dem gleichen Rechte auch annehmen, dafs der Diplokokkus Jaeger, wenn er wieder unter günstigere Wachstumsbedingungen gestellt wird, vielleicht auch einmal wieder gramnegativ würde und so sich zu seinem angeblichen Bruder, dem Meningokokkus, wieder zurückfände. Soviel ich weifs, ist hierüber in der Literatur nichts bekannt. Wenn ich nun auch die Gramfärbung als eine grundlegende und zuverlässige Methode ansehe, um Bakterien zu identifizieren, so glaube ich doch, dafs sie bei der Vergleichung von Mitteilungen aus verschiedenen Instituten nicht allzu ausschlaggebend sein darf, da sie völlig einwandfreie Resultate nur ergibt, wenn von den verschiedenen Autoren ganz genau nach einer bestimmten Methode gearbeitet wird, was wohl meistens nicht der Fall sein wird.

Viel sicherer ist die modernste Art, Bakterien zu identifizieren, die Agglutination, auf welche auch Jaeger[1]) hinweist, indem er dabei betont, dafs sie gerade das Verbindende zwischen dem Meningokokkus und seinem Diplokokkus sei; denn sie beweise die Arteinheit, auch wenn die kulturellen Merkmale mehr oder weniger auseinandergingen. Es ist das Verdienst Jaegers, als erster Arbeiten über ein spezifisch agglutinierendes Meningokokkenserum veröffentlicht und hervorgehoben zu haben, dafs es mit Hilfe der Agglutination möglich sei, zweifelhafte Stämme als solche zu erkennen. Wenn er nun aber behauptet (und aufser ihm auch noch andere, wie z. B. Sorgentz[2]) und Jasper[3])), dafs sein Diplokokkus durch ein vermittelst des Meningokokkus gewonnenes spezifisches Serum agglutiniert werde und daher als mit dem Meningokokkus identisch anzusehen sei, so mufs ich ihm nach den Ergebnissen der in unserem Institut angestellten Nachprüfungen, was die Tatsache der Agglutination seines Diplokokkus im spezifischen Meningokokkenserum betrifft, bis zu einem gewissen Grade zwar zustimmen, der Schlufsfolgerung mufs ich aber entschieden widersprechen.

1) Wiener med. Wochenschr., 1906, Nr. 44.
2) a. a. O.
3) Wiener med. Wochenschr., 1906, Nr. 44.

1905 ging aus unserem Institut eine Arbeit von Feldermann[1]) hervor, deren Ergebnisse darin gipfelten, dafs auf Grund der angestellten Agglutinationsversuche der Meningokokkus und der Diplokokkus Jaeger für zwei verschiedene Bakterienarten erklärt wurden. Ich habe diese Versuche im vergangenen Jahre wieder aufgenommen, erweitert und bis in die letzte Zeit fortgesetzt. Im folgenden möchte ich darüber kurz berichten.

Bei den Versuchen, ein hochwertiges Serum zu gewinnen, gingen zwar hin und wieder die Tiere (Kaninchen) ein, besonders nach den immer intravenös vorgenommenen Injektionen von abgetöteten Kulturen des Diplokokkus Jaeger, doch gelang es bei allmählichem Ansteigen schliefslich, bis zu hohen Dosen (10—12 Agarkulturen) zu gelangen, welche die Tiere ohne erheblichen Schaden vertrugen. Allerdings fiel mir immer auf, dafs die mit dem Diplokokkus Jaeger behandelten Tiere fast regelmäfsig im Wachstum und Ernährungszustande ganz bedeutend zurückblieben, ein Umstand, welcher zweifellos auf die für Kaninchen gröfsere Schädlichkeit der von diesem Diplokokkus gebildeten Toxine zurückzuführen ist. Als Kulturen benutzte ich (wie auch später zu den Agglutinationsversuchen) zwei schon vor Jahren von Král bezogene Stämme, welche morphologisch und kulturell alle typischen Merkmale des Meningokokkus und des Diplokokkus Jaeger aufwiesen. Eine authentische Kultur seines Diplokokkus von Jaeger zu erhalten, war mir leider unmöglich, da ihm seine sämtlichen Kulturen abgestorben sind.

Auf diese Weise gelang es mir einmal, zwei Sera zu erhalten, welche für die homologen Stämme einen Titer von 1 : 10000 hatten. Diese beiden Sera und noch zwei andere mit niedrigerem Titer prüfte ich auf ihr Agglutinationsvermögen gegenüber Meningokokkus, Diplokokkus Jaeger und anderen Kokkenarten. Das Ergebnis dieser Prüfung erhellt aus Tabelle I—IV; zum Verständnis der Tabellen führe ich an, dafs a = sofortige Beobachtung, b = Beobachtung nach 2stündigem Stehen bei 37°, C = Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung.

1) Agglutinationsversuche mit Meningokokken. Inaug.-Diss. Marburg, 1905.

Tabelle I.
Weichselbaum-Serum, gewonnen am 11. Juni 1906.

Verdünnung	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10000	C
Meningokokkus	a + b +	a + b +	a + b +	a + b +	a + b +	a — b +	a — b +	a — b +	—
Dipl. Jaeger	a + b +	a + b +	a — b +	a — b +	a — b —	a — b —	a — b —	a — b —	—
Staphylococcus pyog. aur.	a + b +	a + b +	a + b +	a — b —	a — b —				—
Strept. pyog.	a + b +	a — b +	a — b —	a — b —	a — b —				—

Tabelle II.
Weichselbaum-Serum, gewonnen am 25. August 1906.

Verdünnung	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	C
Meningokokkus	a + b +	a + b +	a + b +	a + b +	a + b +	a — b +	a — b —	—
Dipl. Jaeger	a + b +	a — b +	a — b +	a — b —	a — b —	a — b —	a — b —	—
Staphylococcus pyog. aur.	a — b +	a — b —	a — b —	a — b —	a — b —			—
Strept. pyog.	a + b +	a — b +	a — b —	a — b —	a — b —			—

Tabelle III.
Jaeger-Serum, gewonnen am 25. August 1906.

Verdünnung	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10000	C
Dipl. Jaeger	a + b +	a + b +	a + b +	a + b +	a + b +	a + b +	a — b +	a — b +	±
Meningokokkus	a + b +	a — b +	a — b —	a — b —	a — b —				—
Staphylococcus pyog. aur.	a + b +	a — b +	a — b —	a — b —	a — b —				—
Strept. pyog.	a + b +	a + b +	a — b —	a — b —	a — b —				—

Tabelle IV.
Jaeger-Serum, gewonnen am 11. Juni 1906.

Verdünnung	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	C
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a +	a —	a —	a —	—
	b +	b +	b +	b +	b +	b +	b —	
Meningokokkus	a —	a —	a —	a —	a —	a —	a —	—
	b +	b +	b —	b —	b —	b —	b —	
Staphylococcus	a +	a +	a —	a —	a —			—
pyog. aur.	b +	b +	b +	b —	b —			
Strept. pyog.	a +	a —	a —	a —	a —			—
	b +	b +	b +	b —	b —			

Aus diesen Tabellen geht folgendes hervor:

1. Das spezifische Weichselbaum-Serum wirkt aufser auf seinen homologen Stamm zweifelsohne auch auf den Diplokokkus-Jaeger agglutinierend, und zwar bis zu beträchtlichen Verdünnungsgraden (1:500, siehe Tabelle I). Diese Agglutinierbarkeit des Diplokokkus Jaeger durch Weichselbaum-Serum reicht aber bei weitem nicht an die des Meningokokkus heran.
2. Auch andere Kokkenarten werden durch das Weichselbaum-Serum agglutiniert, wenn auch in weit geringerer Verdünnung als der Meningokokkus.
3. Der Meningokokkus zeigt im spezifischen Jaeger-Serum ebenfalls die Erscheinungen der Agglutination, doch nur bis zu einer Verdünnung von 1 : 50 bei einem Titer des Serums von 1 : 10000 und 1 : 2000.
4. Ebenso wie im Weichselbaum-Serum agglutinieren auch im Jaeger-Serum andere Kokkenarten, doch bisweilen in höheren Verdünnungen als in ersterem.

Nach vorstehenden Ausführungen könnte es fast so scheinen, als ob Jaeger mit seiner Behauptung, sein Diplokokkus zeige im Weichselbaum-Serum Agglutination und umgekehrt, und dafs deshalb beide Diplokokkenarten identisch wären, im Recht sei. Eine befriedigende Erklärung dieser Erscheinung erscheint dringend geboten, denn es kostet Überwindung, zwei Bakterienarten,

welche ihrem kulturellen Verhalten und ihrer Gramfärbbarkeit nach so wesentliche Unterschiede zeigen, als ein und dieselbe Art anerkennen zu müssen.

Die Agglutination des Meningokokkus durch Jaeger-Serum war ja ziemlich bedeutungslos, da ja auch andere Kokkenarten die gleiche Erscheinung darboten; es war dies also nicht eine nur dem Meningokokkus gegenüber sich bemerkbar machende Eigenschaft des Jaeger-Serums.

Wenig bedenklich war ferner die zwar relativ geringe Agglutinierbarkeit anderer Kokken im Weichselbaum-Serum, da durch genügend hohe Verdünnungen Fehlerquellen in der Praxis auszuschliefsen wären.

Ausschlaggebend für die Anstellung weiterer Prüfungen war für mich die Agglutination des Diplokokkus Jaeger durch Weichselbaum-Serum in der hohen Verdünnung von 1 : 500 (Tab. I).

Ich hatte nun bei meinen Versuchen als Kontrollen immer Verreibungen der beiden Diplokokkenstämme in physiologischer Kochsalzlösung benutzt. Wenn dabei auch der Diplokokkus Jaeger bisweilen eine Andeutung von Häufchenbildung zeigte, eine Erscheinung, welche beim Meningococcus niemals beobachtet wurde, so genügte diese geringfügige Agglomeration doch wohl nicht, um daraus einen Wesensunterschied zwischen den beiden Diplokokkenarten herzuleiten. Viel bindender mufsten die Ergebnisse sein, wenn es gelang, durch eine systematische Prüfung des Verhaltens gegenüber verschiedenen Normalseris eine wesentliche Differenz festzustellen.

Kolle und Wassermann[1]) betonen mit Recht, dafs ein positiver Ausfall der Agglutinationsprobe für die Diagnose Meningokokken nur beweisend sei, wenn hohe Agglutinationswerte im spezifischen Serum erzielt werden beim Fehlen der Zusammenklumpung in normalem Serum und Kochsalzlösung. Dieser Forderung schliefst sich auch Jaeger[2]) an und fügt hinzu, dafs

1) Deutsche med. Wochenschr., 1906, 19. April.

2) a. a. O.

sein »resistenter« Typus der Meningokokken diesen Bedingungen zu allen Zeiten entsprochen habe. Auf Grund meiner Nachprüfungen kann ich diesen letzten Satz nicht als richtig anerkennen. Ich habe mit normalem Kaninchen-, Meerschweinchen- und Menschenserum gearbeitet; das Ergebnis erläutern folgende vier Tabellen:

Tabelle V.

Normales Kaninchen-Serum, gewonnen am 25. August 1906.

Verdünnung	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000
Meningokokkus	a —	a —	a —	a —	a —				
	b —	b —	b —	b —	b —				
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a ?	a ?	a —	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b +	b +	b +	b +	b +	b —

Tabelle VI.

Normales Kaninchenblut-Serum, gewonnen am 20. Sept. 1906.

Verdünnung	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2000
Meningokokkus	a —	a —	a —	a —	a —	a —
	b —	b —	b —	b —	b —	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b +	b +	b —

Tabelle VII.

Normales Meerschweinchen-Serum, gewonnen am 16. Dez. 1906.

Meningokokkus	a —	a —	a —	a —	a —	a —
	b —	b —	b —	b —	b —	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a +	a ?	a —
	b +	b +	b +	b +	b +	b —

Tabelle VIII.

Normales Menschen-Serum, gewonnen am 1. Dez. 1906.

Meningokokkus	a —	a —	a —	a —	a —	a —
	b —	b —	b —	b —	b —	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a +	a ?	a —
	b +	b +	b +	b +	b +	b ?

Aus diesen Versuchen ist zu entnehmen, dafs der vorliegende Meningokokkenstamm durch die benutzten drei Serumarten niemals, auch nicht in konzentrierten Lösungen agglomeriert wird, während der Diplokokkus Jaeger bis zu sehr hohen Verdünnungen die Erscheinung der Häufchenbildung zeigt. Am intensivsten war diese immer im Meerschweinchenserum.

Auf die Tatsache, dafs der Meningokokkus durch normales menschliches Serum niemals agglomeriert wird, hat auch v. Lingelsheim[1]) hingewiesen und auch Mantenfels[2]) Versuche ergaben, dafs die verschiedenen von ihm geprüften Meningokokkenstämme in normalem Hammel- und Kaninchenserum nicht agglomeriert werden. Die Angaben des letzteren lassen aber zugleich auch erkennen, dafs die von ihm als Stämme des Diplokokkus Jaeger bezeichneten Kulturen in den beiden genannten Serumarten wenigstens bis zu einer Verdünnung von 1 : 100 deutliche Häufchenbildung zeigten. Aber auch in physiologischer Kochsalzlösung hat er, ebenso wie ich, bisweilen spontane Agglomeration des Diplokokkus Jaeger wahrgenommen, dagegen nicht bei den sicheren Meningokokkenstämmen. Inwieweit auch andere Kokkenarten durch normales Serum beeinflufst werden, bleibt weiteren Versuchen vorbehalten; zur Entscheidung der Identitätsfrage des Meningokokkus und des Diplokokkus Jaeger steht dies aber in keinerlei Beziehung.

Die bisher erwähnten Prüfungen wurden, wie bereits oben hervorgehoben, mit einer alten Meningokokken- und Jaeger-Kultur vorgenommen. Vor kurzem stellte mir nun Herr Prof. Bonhoff eine Kultur zur Verfügung, welche er aus der Lumbalflüssigkeit eines in der hiesigen medizinischen Klinik beobachteten sporadischen Falles von epidemischer Genickstarre gezüchtet hatte, und welche alle Merkmale eines echten Meningokokkus aufwies. Ich habe diese Kultur zugleich mit der alten Jaegerkultur den gleichen Prüfungen unterzogen, wie ich sie oben geschildert habe, doch mit dem Unterschiede, dafs ich nach

1) Deutsche med. Wochenschr., 1905, Nr. 26.

2) Münch. med. Wochenschr., 1905, Nr. 43.

Kutschers[1]) Empfehlung die Proben immer 24 Stunden bei einer Temperatur von 55° hielt, da es Stämme gibt, welche bei 37° völlig inagglutinabel sind, bei 55° jedoch ihren Meningokokkencharakter unschwer erkennen lassen. Ich ging dabei wieder so vor, dafs ich die Proben zunächst sogleich, nachdem ich die Bakterienaufschwemmung mit der Serumverdünnung zusammengebracht hatte, auf Agglutination bzw. Agglomeration untersuchte (= a der Tabellen) und eine weitere Prüfung erst vornahm, nachdem die Proben 24 Stunden bei 55° gestanden hatten (= b der Tabellen). Aufser den beiden von mir selbst hergestellten Weichselbaum- und Jaeger-Seris habe ich auch ein von dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten bezogenes Serum mit dem Titer 1 : 2000 benutzt. In den Tabellen X—XIV sind die Ergebnisse aufgezeichnet.

Tabelle IX.

Weichselbaum-Serum, gewonnen am 11. Juni 1906.

Verdünnung	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000
Meningokokkus	a +	a +	a +	a +	a ?	a —
Marburg	b +	b +	b +	b +	b +	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a —	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b —	b —	b —

Tabelle X.

Meningokokken-Serum, bezogen aus dem Institut für Infektionskrankheiten.

Meningokokkus	a +	a +	a +	a +	a —	a —
Marburg	b +	b +	b +	b +	b +	b +
Dipl. Jaeger	a +	a —	a —	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b —	b —	b —

Tabelle XI.

Jaeger-Serum, gewonnen am 25. August 1906.

Meningokokkus	a +	a +	a ?	a —	a —	a —
Marburg	b +	b +	b —	b —	b —	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a +	a ?	a —
	b +	b +	b +	b +	b +	b +

1) Deutsche med. Wochenschr., 1906, Nr. 46.

Tabelle XII.

Normales Kaninchen-Serum, gewonnen am 29. Juli 1907.

Verdünnung	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 2000
Meningokokkus	a +	a —	a —	a —	a —	a —
Marburg	b —	b —	b —	b —	b —	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a +	a ?	a —
	b +	b +	b +	b +	b +	b —

Tabelle XIII.

Normales Meerschweinchen-Serum, gewonnen am 30. Juli 1907.

Meningokokkus	a +	a +	a +	a —	a —	a —
Marburg	b —	b —	b —	b —	b —	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a —	a —	a —	a —
	b +	b +	b +	b +	b +	b ?

Tabelle XIV.

Normales Menschen-Serum, gewonnen am 8. August 1907.

Meningokokkus	a —	a —	a —	a —	a —	a —
Marburg	b —	b —	b —	b —	b —	b —
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a ?	a —	a —
	b +	b +	b +	b +	b ?	b —

Bei Durchsicht der obigen Tabellen frappiert sofort die Agglomeration der für einen echten Meningokokkus gehaltenen Marburger Kultur im normalen Meerschweinchenserum bis zu einer Verdünnung von 1 : 100 und zwar vor dem Stehenlassen bei einer Temperatur von 55⁰, während die Jaeger-Kultur nur bis 1 : 50 agglomeriert wurde (Tab. XIII). Dafs letztere im Vergleich zu dem Ergebnis der Tab. III bei der sofortigen Beobachtung einen niedrigeren Titer aufweist, wird man wohl aus der nicht immer gleichmäfsigen Zusammensetzung des normalen Meerschweinchenserums herleiten müssen. Die Tatsache aber, dafs unsere Marburger Kultur im normalen Serum einen so hohen Agglomerationstiter aufwies, machte mich zunächst geneigt, anzunehmen, es handle sich überhaupt nicht um einen echten Meningokokkus, bis mich die Beobachtung am nächsten Tage

eines Besseren belehrte. Zu meiner gröfsten Überraschung war von einer Agglomeration unserer Marburger Kultur überhaupt nichts mehr zu sehen, während die Jaeger-Kultur diese Erscheinung in aufserordentlich kräftiger Weise bis zu einer Verdünnung von 1 : 1000 aufwies. Überhaupt habe ich die Beobachtung gemacht, dafs Meerschweinchenserum den Diplokokkus Jaeger von allen Seris am stärksten agglomeriert. Die Agglomeration unserer Marburger Kultur ist aber als eine Pseudo-Agglomeration zu bezeichnen; eine Erklärung dafür habe ich nicht. Auch in normalem Kaninchenserum war bei einer Verdünnung von 1 : 10 eine Pseudo-Agglomeration eingetreten, welche nach dem 24stündigen Stehen bei 55° ebenfalls wieder verschwand (Tab. XII).

Wegen dieses variablen Verhaltens der Meningokokken im normalen Serum ist also eine Beobachtung nach 24stündigem Stehen bei 55° unbedingt erforderlich, weil sonst Trugschlüsse unausbleiblich sind. Was die Technik betrifft, so ist es zweckmäfsig, um ein Verdunsten der Flüssigkeit zu verhüten, die Gläser mit einer Gummikappe zu versehen.

Im übrigen ergeben die Tabellen IX—XIV ein annähernd gleiches Verhalten der beiden Diplokokken zu den verschiedenen Seris, wie die Tabellen I—VIII. Jedenfalls geht aus der ganzen Versuchsreihe (Tab. IX—XIV) hervor, dafs unsere neue Marburger Kultur ein echter Meningokokkus ist.

Was nun die Agglutination der alten und neuen Meningokokkenkultur (bis 1 : 50) durch Jaeger-Serum betrifft (Tab. III, IV, XI), eine Erscheinung, welche auch von Manteufel[1]) bei einem Stamm und von Feldermann[2]) beobachtet wurde, so will das bei einem Titer der betreffenden Sera für den homologen Stamm von 1 : 2000, 1 : 10000 und 1 : 1000 ja nicht viel besagen, zumal, wie aus den Tabellen hervorgeht, auch andere Kokkenarten agglutiniert wurden. Da aber unsere Meningokokkenkulturen sich normalem Serum gegenüber völlig eindeutig verhielten, d. h. nicht agglomeriert wurden, so erheischte

1) a. a. O.
2) a. a. O.

die Häufchenbildung im Jaeger-Serum doch eine nähere Erklärung. Da ich das Jaeger-Serum nach meinen bisherigen Versuchen nicht mehr als für Meningokokken spezifisch ansehen konnte, so lag der Gedanke nahe, dafs auch anderen Kokken-Seris gegenüber der Meningokokkus sich ähnlich verhalte. Ich fertigte mir daher mit Hilfe von frischgezüchteten Staphylo- und Streptokokkenkulturen je ein Serum an. Diese beiden Sera brachte ich aufser mit den homologen Stämmen auch mit unseren beiden Meningokokken-Kulturen und mit der Jaeger-Kultur zusammen. Die beiden Tabellen XV und XVI ergeben über diese Versuche das Nähere.

Tabelle XV.
Streptokokken-Serum, gewonnen am 20. Sept. 1906 (Titer 1:1000).

Verdünnung	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2000	C
Meningokokkus	a +	a +	a ?	a —	a —	a —	—
alt	b +	b +	b +	b —	b —	b —	
Meningokokkus	a +	a ?	a —	a —	a —	a —	—
Marburg	b +	b +	b —	b —	b —	b —	
Dipl. Jaeger	a +	a +	a ?	a —	a —	a —	+
	b +	b +	b +	b +	b ?	b —	—

Tabelle XVI.
Staphylokokken-Serum, gewonnen am 20. Sept. 1906 (Titer 1:1000).

Verdünnung	1:10	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2000	C
Meningokokkus	a +	a —	a —	a —	a —	a —	—
alt	b +	b +	b —	b —	b —	b —	
Meningokokkus	a +	a ?	a —	a —	a —	a —	—
Marburg	b +	b +	b —	b —	b —	b —	
Dipl. Jaeger	a +	a +	a +	a —	a —	a —	—
	b +	b +	b +	b +	b —	b —	

Ein Vergleich der Tabellen III, IV und XI mit den beiden letzten ergibt eine gewisse Ähnlichkeit. Der Titer für den Meningococcus ist zwar relativ niedrig, aber doch hoch genug, um Vorsicht zu üben bei der Diagnose der epidemischen Genickstarre auf Grund seiner Agglutinationsprobe mit Blutserum eines Erkrankten. Das Arbeiten mit hohen Verdünnungen wird da-

durch zur unabweisbaren Notwendigkeit. Die Tatsache, dafs der Meningokokkus im Jaeger-Serum agglutiniert wird, beruht aber, das möchte ich nochmals betonen, nicht, wie Jaeger will, auf einer spezifischen Agglutinationskraft dieses Serums, sondern kommt auch anderen Kokkenseris zu. Daraus also eine Identität des Meningokokkus und des Diplokokkus Jaeger herleiten zu wollen, ist nicht angängig. Dafs dieser Diplokokkus ebenfalls in den beiden Kokkenseris Agglutination zeigt, braucht man nicht auf eine diesen beiden Seris eigentümliche Wirkung zurückzuführen, sondern kann man auch ohne Zwang aus seinem Verhalten normalem Serum gegenüber herleiten.

Nach meinen Versuchen besteht also die Angabe Jaegers, sein »resistenter Typus« der Meningokokken habe mit echtem Meningokokkenserum immer hohe Agglutinationswerte ergeben beim Fehlen der Zusammenklumpung im normalen Serum und Kochsalzlösung zu Unrecht; die Agglutination des Diplokokkus Jaeger im spezifischen Meningokokkenserum ist allein bedingt durch einn schon im normalen Serum stattfindende Agglomeration. Deshalb glaube ich ein Recht zu haben, von den Meningokokken und den Jaegerschen Diplokokken als von zwei voneinander verschiedenen Lebewesen zu sprechen.

Was ergeben nun meine Versuche für die Praxis, speziell für die Sicherstellung der Diagnose Meningokokken, wie sie jetzt Aufgabe der neu eingerichteten Untersuchungsämter für ansteckende Krankheiten ist?

1. Es ist durchaus notwendig, dafs das benutzte Serum ein möglichst hochwertiges ist, damit mit hohen Verdünnungen gearbeitet werden kann.
2. Als Kontrollflüssigkeit ist neben der Kochsalzlösung auch eine Verdünnung von normalem Serum mit der zu untersuchenden Kultur zu beschicken, nicht, wie es bisher wohl vielfach geschehen ist, nur Kochsalzlösung. Die Serumart, mit welcher gearbeitet wird, ist gleichgültig, ebenso die Verdünnung bei Berücksichtigung des Punktes 3. Kulturen, welche in normalem Serum agglo-

merieren, kommen für die Diagnose Meningokokken nicht in Betracht.

3. Das 24stündige Stehenlassen der Proben bei einer Temperatur von 55° ist nicht zu unterlassen, da es einerseits schwer agglutinable Meningokokkenstämme gibt (Kutscher) und andererseits eine Agglomeration in normalem Serum vorgetäuscht werden kann, welche bei 55° wieder verschwindet.

Dafs nur Kulturen benutzt werden dürfen, welche nicht älter als 24 Stunden sind, versteht sich von selbst.

Das Hühnercholeraaggressin und seine Wirkungsweise.

Von

Dr. **Edmund Weil.**

(Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. Vorstand Prof. F. Hueppe.)

Die Untersuchungen über die Aggressivität der Bakterien veranlafsten eine Reihe von Forschern, ihre Ansicht über diese Fragen zu äufsern, wobei von den verschiedenen Autoren trotz der Bestätigung der Versuchstatsachen Anschauungen mitgeteilt wurden, welche gegen die Aggressintheorie zu sprechen schienen. Der weitaus gröfste Teil der experimentellen Nachuntersuchungen bezog sich auf Halbparasiten, Mikroorganismen geringerer Aggressivität, während die Bakterien stärkste Aggressivität nur sehr ungenügende Berücksichtigung fanden. Es ist klar, dafs gerade die letzteren hierfür die geeignetsten sind. Wir möchten nur an die Toxinbildner erinnern, wo ähnliche Verhältnisse vorliegen. Bei den toxischen Bakterien, wo das Toxin in reichem Mafse und in verhältnismäfsig reiner Form gebildet wird, läfst es sich auch leicht auffinden, bei Mikroorganismen geringerer Toxizität stiefs man betreffs des Giftnachweises lange auf Schwierigkeiten, so dafs man diesen Bakterien die Fähigkeit der Giftbildung überhaupt absprach, sondern nur die giftige Leibessubstanz, das Endotoxin, nachwies. Erst in jüngster Zeit konnte gezeigt werden, dafs zwischen Toxin und Endotoxin qualitative Differenzen überhaupt nicht bestehen.

Auch das Aggressin wurde bei einem Mikroorganismus stärkster Aggressivität gefunden. Es wurde von Bail beim

Milzbrandbazillus entdeckt, als er vergebens das Milzbrandgift suchte. Also gerade aus dem Fehlen der Giftigkeit wurde auf eine andere Eigenschaft des Milzbrandbazillus, den Organismus zu bewältigen, geschlossen, auf seine Vermehrungsfähigkeit. Diese infektionsbefördernde Eigenschaft des Milzbrandaggressins wurde an der Überempfindlichkeit im Immunisierungsverlaufe erkannt. Hierauf konnte bei einem Mikroorganismus allerstärkster Aggressivität beim Hühnercholerabazillus die Bailsche Entdeckung von uns in vollem Mafse bestätigt werden. Gleichzeitig konnten, als die Untersuchungen auf Bakterien geringerer und geringster Aggressivität ausgedehnt wurden, in den aggressiven Flüssigkeiten Gifte aufgefunden werden, so von Kikuchi beim Dysenteriebazillus. Da jedoch die Giftigkeit meist für jene Tiere fehlte, bei welchen das Aggressin die Infektion beförderte, und umgekehrt für jene Tiere nachweisbar war, bei welchen es die Infektion nicht erhöhte, so schien die Annahme gerechtfertigt, dafs Gift und Aggressin nebeneinander in derselben Flüssigkeit vorkommen; dafs die Giftwirkung mit der Aggressinwirkung nicht zu identifizieren sei. Für die Selbständigkeit der Aggressinwirkung sprach ferner der Umstand, dafs es gerade bei den stärksten Toxinbildnern nicht gelungen war, aggressive Fähigkeiten aufzufinden, wie die Untersuchungen von Salus bei Diphtheriebazillen zeigten. Da durch die Choleraversuche Bails erwiesen war, dafs »freie Rezeptoren« im Aggressin die Infektionssteigerung nicht herbeiführen konnten, so war man zur Annahme berechtigt, dafs hier eine bisher unbekannte Eigenschaft der im Verlaufe einer Infektion entstandenen Flüssigkeiten vorliege, welche durch die Wirkung der bekannten Bakterienstoffe und -gifte nicht erklärt werden können.

Die Diskussion, die sich über diese Fragen entspann, hat im Grunde genommen nichts Neues gebracht. Der Gehalt der Aggressine an giftigen und ungiftigen Bakteriensubstanzen wurde in den Bereich der Diskussion gezogen, indem eine Gruppe von Autoren die »freien Rezeptoren«, eine andere, die Endotoxine für die Aggressinwirkung verantwortlich machten, eine Erklärungsweise, welche, wie aus dem Gesagten bereits hervorgeht,

die Anhänger der Aggressintheorie ebenfalls erwogen und verworfen haben, zu einer Zeit, als die Diskussion über die Aggressintheorie überhaupt noch nicht eröffnet war. Die gegnerischen Autoren haben in einer grofsen Anzahl experimenteller Arbeiten ihre Ansichten zu begründen gesucht, und zwar hauptsächlich an Mikroorganismen, deren Aggressivität keine sehr hohe, deren Bakteriensubstanz aber von den Körpersäften leicht angreifbar und giftig ist. Aus letzterem Grunde haben die betreffenden Autoren Stützen für ihre Anschauung gefunden. Die genannten Eigenschaften, die bei den Halbparasiten vorhanden sind, fehlen bei einem Mikroorganismus, den wir früher schon nach verschiedenen Richtungen hin untersucht haben, trotz stärkster Aggressivität desselben, beim Hühnercholerabazillus. Es war daher zu erwarten, dafs von diesem Keim ein Aggressin zu erhalten war, welches in möglichst einwandfreier und reiner Form alle Bedingungen erfüllte. Der Hühnercholerabazillus schien daher geeignet, zu prüfen, inwiefern die gegen die Aggressintheorie gemachten Einwände Berechtigung haben.

Wir wollen zunächst untersuchen, ob im Hühnercholeraaggressin ein Gift vorhanden ist, welches durch Schädigung des Organismus, durch Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit desselben, die Ursache für den aggressiven Effekt des Exsudates abgeben kann. Sauerbeck hat nämlich die Ansicht ausgesprochen, dafs die infektionserhöhende Wirkung des Hühnercholeraaggressins auch auf Giftwirkung beruhen könne, weil in der Literatur Angaben über die Giftigkeit des Hühnercholerabazillus existieren. Pasteur hatte bekanntlich gefunden, dafs man mit allerdings sehr grofsen Mengen Bouillon, in welcher Hühnercholerabazillen längere Zeit gewachsen waren (150 ccm auf 2 ccm eingeengt), bei Hühnern und Tauben Schlafsucht erzeugen könne, und V. Stang konnte die Versuche Pasteurs bestätigen und insofern erweitern, als er mit geringerer Menge (50 ccm) bei Tauben und Hühnern den Tod herbeiführen konnte. Gleichzeitig aber teilt Stang mit, dafs das sterile Exsudat von Tieren, welche der Infektion erlegen sind, dieses Gift nicht aufwies, da er es in der Menge von 20 ccm schadlos injizieren

konnte. Es ist klar, dafs, wenn man sich auf Grund früherer Versuche ein Urteil über die Giftigkeit des Hühnercholeraaggressins bilden wolle, ausschliefslich letztere Angaben Stangs in Betracht kommen. Die aus der Literatur bekannten Angaben über die Giftigkeit der Hühnercholerabakterien sind aufserdem für die Aggressinfrage schon aus dem Grunde bedeutungslos, da eine Giftwirkung unseres Wissens nur für Hühner und Tauben, nicht aber für Meerschweinchen, welche ausschliefslich für die Aggressinversuche verwendet wurden, bekannt ist.

Die nachfolgende Versuchsreihe, wo Infektionsbeförderung und isolierte Aggressinwirkung gleichzeitig geprüft wurden, sollte uns darüber Aufschlufs geben, in welchem Verhältnis die infektionsteigernde Wirkung des Exsudates zu einer etwaigen Schädigung des Tieres durch das Exsudat allein steht; denn nur auf diese Art ist der Beweis zu erbringen, inwiefern der Einwand einer Giftschädigung des Tierkörpers durch das Aggressin Berechtigung hat oder nicht.

Als Aggressin wurde wie in den früheren Versuchen das Brusthöhlenexsudat intrapleural infizierter Kaninchen benutzt, welches nach sorgfältigstem Zentrifugieren diesmal mit einem entfernbaren Antiseptikum (Toluol) sterilisiert worden war, weil bei Verwendung gröfserer Mengen Aggressins der Karbolgehalt schädigend wirkt; aufserdem scheint das Toluol das Aggressin mehr zu schonen als die mehrstündige Erhitzung unter Karbol. Zwei Kaninchen von 2500 g, welche mit je 1 Tropfen Bouillonkultur infiziert wurden, lieferten zusammen ca. 55 ccm Exsudat, welches gemischt zu den Versuchen verwendet wurde. Die Aggressinversuche wurden an Meerschweinchen durchgeführt, welche Tiere ausschliefslich dazu verwendet werden können, da sie bekanntlich von der Subkutis aus resistent sind. Die Bakteriendosis, gegenüber welcher die Tiere widerstandsfähig sind, wurde, wie beifolgender Versuch zeigt, eigens ermittelt.

Versuch I.

Meerschweinchen I. 285 g. 0,04 ccm Bouillonkultur subkutan.

Stirbt nach 24 Std.: Massenhaft Bazillen im Ödem an der Infektionsstelle und im Herzblut.

Meerschweinchen II. 250 g. 0,01 ccm Bouillonkultur subkutan. Stirbt nach 24 Std.: Befund wie bei Meerschweinchen I.

Meerschweinchen III. 190 g. 0,0004 ccm Bouillonkultur subkutan. Nach 24 Std.: Bohnengrofses, derbes, abgegrenztes Infiltrat. Bleibt dauernd am Leben.

Die hier ermittelte Bakterienmenge stellt nicht die knapp untertödliche Dosis, sondern wahrscheinlich nur einen Bruchteil derselben dar, da nie Tiere dieser Infektion erliegen. Damit ist auch etwaigen Schwankungen in der Resistenz, die bei den Aggressinversuchen eine Rolle spielen könnten, Rechnung getragen. Beifolgend sind die Aggressinversuche mitgeteilt.

Versuch II. 12. Juni.

Meerschweinchen IV. 240 g. 0,0004 ccm Bouillonkultur + 2,5 ccm normales Kaninchenserum subkutan.

(Kontrolle I.) Nach 24 Std.: Bohnengrofses Infiltrat. Bleibt am Leben.

Meerschweinchen V. 260 g. 0,0004 ccm Bouillonkultur + 2,5 ccm Kochsalzlösung subkutan.

(Kontrolle II.) Nach 24 Std.: Bohnengrofses Infiltrat. Bleibt am Leben.

Meerschweinchen VI. 410 g. 0,00004 ccm Bouillonkultur + 1,5 ccm Aggressin subkutan.

Nach 18 Std.: Über die ganze Bauchfläche ausgebreitetes nicht abgegrenztes ödematöses Infiltrat. Stirbt nach 22 Std. Im Infiltrat massenhaft Bazillen, keine Zellen. Im Herzblut mikroskopisch zahlreiche Bazillen. Kulturell: 1 Öse Herzblut: Zusammenhängender Rasen.

Meerschweinchen VII. 400 g. 0,00004 ccm Bouillonkultur + 2,5 ccm Aggressin subkutan.

Nach 18 Std.: Wie Meerschweinchen VI. Stirbt nach 25 Std. Mikroskopischer und kultureller Befund wie bei Meerschweinchen VI.

Meerschweinchen VIII. 385 g. 20. Juni 440 g. 6 ccm Aggressin subkutan auf einer Seite.

Nach 24 Std.: Verdickung an der Infektionsstelle. Tier vollkommen munter, bleibt dauernd am Leben. Beobachtet 3 Monate.

Meerschweinchen IX. 380 g. 20. Juni 430 g. 12 ccm Aggressin subkutan auf zwei Seiten verteilt.

Nach 24 Std.: Auf beiden Seiten abgegrenztes, haselnufsgrofses Infiltrat. Tier vollkommen munter. Bleibt dauernd am Leben. Beobachtet 3 Monate.

Dieser Versuchsreihe entnimmt man folgendes: Die infektionsbefördernde Wirkung des Aggressins tritt in eklatanter Weise hervor; denn der 10. Teil der Bakterienmenge wird bei Tieren, welche gröfser und aus dem Grunde resistenter sind als

die Kontrolltiere, tödlich, wenn man gleichzeitig 1,5 ccm oder 2,5 ccm Aggressin mit einspritzt. Während die Kontrolltiere nur mit lokaler Infiltratbildung reagieren, ist der Verlauf bei den Aggressintieren ein akuter, von der Infektionsstelle ausgehender, rasch zum Tode führender. Die reichliche Anwesenheit der Bakterien im Blute weist auf den septischen Charakter der Infektion hin. Gleichzeitig geht aus diesen Versuchen mit derselben Klarheit hervor, dafs bei gleicher Applikation des Aggressins allein keine giftige oder sonstige Schädigung des Meerschweinchens wahrzunehmen ist; denn die 8mal gröfsere Menge als zur Infektionsbeförderung nötig ist, wird, abgesehen von der Infiltratbildung, welche mit der Resorption des fremden Serums zusammenhängt, symptomlos vertragen. Um die Ungiftigkeit des Kaninchenaggressins für Meerschweinchen zu erweisen, mufs die subkutane Injektion gewählt werden, weil Meerschweinchen auf geringe Mengen intraperitoneal injizierter, auch inaktiver Kaninchenflüssigkeit (4—5 ccm) sehr schwer, meist tödlich reagieren, worauf auch andere Autoren, wie Flexner, mit Recht hingewiesen haben. Wir möchten noch besonders darauf aufmerksam machen, dafs bei subkutaner Injektion so grofser Eiweifsmengen die peinlichste Sterilität beobachtet werden mufs, da es sonst sehr leicht zur Sekundärinfektion mit gasbildenden Anaeroben (Stallinfektion) kommen kann, was dann zu Täuschungen Anlafs gibt.

Obgleich es für unsere Frage ganz gleichgültig war, ob das Hühnercholeraaggressin auch für andere Tiere giftig ist als für zum Versuche verwendete, so wurde dennoch die isolierte Aggressinwirkung auch für andere Tierarten untersucht. Die Versuche von Stang konnten wir insofern bestätigen, als wir öfter bei unseren Immunisierungen Kaninchen als erste Injektion 25 ccm Aggressin subkutan geben konnten, welches reaktionslos von den Tieren vertragen wurde. Da wir aber von Giftversuchen überhaupt wissen, dafs das Gift intravenös einverleibt besser wirkt, haben wir bei einem Kaninchen auch die intravenöse Injektion gewählt und aufserdem noch Tauben, die angeblich giftempfindlichen Tiere, mit unserem Aggressin injiziert.

Versuch III. 12. Juni.

Kaninchen. 1470 g. 10 ccm Aggressin. intravenös. Tier nie krank. Lebt nach 3 Monaten.

Taube I. 6 ccm Aggressin teils subkutan, teils intramuskulär. Nach 18 Std. vollkommen resorbiert, vollkommen gesund.

10. Juli. Mit $^1/_{10}$ Tropfen Hühnercholera Bouillonkultur infiziert. Nie krank, lebt nach 2 Monaten.

Taube II. 12 ccm Aggressin wie oben. Nach 18 Std. resorbiert, keine Krankheitssymptome.

10. Juli. Mit $^1/_{10}$ Tropfen Kultur infiziert. Nie krank, lebt nach 2 Monaten.

Taube III. 10. Juli. Infiziert mit $^1/_{100}$ Tropfen Kultur.
(Kontrolle.) Stirbt nach 30 Std. typisch.

Wir sehen, dafs auch für andere Tiere das Aggressin keine Giftigkeit zeigt, Schlafsucht konnten wir bei Tauben nicht beobachten, und selbst die grofse Menge eingespritzten fremden Serums machte bei den Tauben keine Störung geltend. Dafs es sich bei dem zu unseren Versuchen verwendeten Aggressin nicht nur um ein zur Infektionsbeförderung, sondern auch zur Immunisierung vollwertiges Aggressin handelt, haben wir damit bewiesen, dafs, wie auch aus dem mitgeteilten Versuche hervorgeht, die beiden Tauben, Tiere, welche sich am schwersten immunisieren lassen, nach der Infektion vollkommene Immunität aufwiesen.

Es ist wohl einleuchtend, dafs wir dem Ausspruch Sauerbecks: Dafs die Infektionsbeförderung bei Hühnercholera ebensogut Toxin- wie Aggressinwirkung sein könne, nicht beistimmen können, wenn wir unsere Versuche berücksichtigen. Sauerbeck ist zu diesem Ausspruch um so weniger berechtigt, als er zu dieser Anschauung nicht auf Grund eigener Experimente, sondern nur durch Verwertung der in der Literatur bestehenden Angaben gelangt ist, aus welchen nur hervorgeht, dafs in Kulturen, in welchen Hühnercholerabakterien mehrere Tage gewachsen sind, ein Gift für Hühner und Tauben nachweisbar ist.

In Exsudaten, wo der Aufenthalt der Bakterien nur nach Stunden zählt, fehlt dieses Gift, was so viel beweist, dafs beim Wachsen der Hühnercholerabakterien im Tierkörper eine nennens-

werte Menge von Bakteriensubstanz, welche bei der Autolyse in Kulturen frei wird, nicht in Lösung geht, wodurch die Anschauung Sauerbecks durch seine eigenen Angaben widerlegt ist. Unsere jetzigen Versuche aber zeigen, eine wie geringe Menge Aggressins zur Demonstration des aggressiven Effektes nötig ist, während grofse Mengen allein schadlos vertragen werden. Es ist daher gar nicht möglich, dafs eine Vergiftung die Ursache der akut zum Tode führenden Infektion mit einer kleinsten Bakterienmenge sein kann. Wenn Sauerbeck bei der Kritik unserer Versuche meint, dafs wir uns nicht der Mühe unterzogen haben, reine Giftlösungen auf ihren aggressiven Effekt zu untersuchen, so möchten wir die Ausführung dieser Versuche, was die Hühnercholera anlangt, aus leicht begreiflichen Gründen Herrn Sauerbeck überlassen. Dafs Gifte, wie alle den Organismus schädigenden Einflüsse infektionsbefördernd wirken können, ist ganz selbstverständlich, und jene Experimente, welche die aggressive Wirkung von Giften gezeigt haben, haben mit der Aggressinauffassung gar nichts zu tun. Es kommt nicht auf den Nachweis an, dafs Gifte aggressiv wirken, sondern darauf, dafs das Aggressin nicht durch Giftgehalt die Infektionsbeförderung veranlassen kann.

Aufser der Giftschädigung kann noch ein anderer Umstand bei der Aggressinwirkung eine Rolle spielen. Beruht z. B. die Widerstandsfähigkeit eines Tieres gegenüber einem bestimmten Mikroorganismus auf Bakterizidie der Säfte oder Leukozyten oder beider vereint, so is es klar, dafs die Störung oder Ausschaltung einer dieser Funktionen die Widerstandsfähigkeit schwächen und eine Infektionsbeschleunigung veranlassen wird. Nun wissen wir, dafs Bakterienextrakte Komplement unwirksam machen, und für alle jene Bakterien, welchen gegenüber das Komplement eine bakterizide Fähigkeit besitzt, werden Bakterienextrakte die Infektion steigern. Bekanntlich haben Wassermann und Citron, welche das Aggressin als einen Bakterienextrakt ansehen, diese Erklärungsweise für die Aggressinwirkung gewählt. Bail und Weil konnten bereits in zahlreichen Versuchen den Nachweis erbringen, dafs die gelösten Bakterienstoffe im Aggressin in so

geringer Menge vorhanden sind, dafs sie allein[1]) für die Komplementbindung nicht in Betracht kommen können, ja dafs die Aggressine im frischen Zustande oft freies Komplement besitzen, wodurch obige Annahme ohnehin haltlos wird. Trotzdem wollen wir beim Hühnercholeraaggressin auch diese Verhältnisse untersuchen. Dasselbe müfste auf die Weise wirken, dafs es durch seinen Gehalt an gelösten Bakteriensubstanzen die bakteriziden Anteile der Körperflüssigkeiten unwirksam macht. Neben der direkten Säftebakterizidie besitzt aber der Organismus noch indirekte, ebenfalls in den Säften gelegene, die phagozytären Fähigkeiten der Leukozyten beeinflussende Fähigkeiten (Opsonine). Als direktes bakterizides Moment kämen dann noch die Eigenwirkung der Leukozyten und Leukozytenstoffe (Endolysine nach Pettersson) in Betracht. Wir wollen nun zunächst im Reagenzglase die Wirkung der genannten Substanzen auf den Hühnercholerabazillus einer Untersuchung unterziehen.

Betreffs der Technik der bakteriziden Versuche mit Hühnercholerabakterien müssen wir auf unsere Publikation in dieser Zeitschrift Bd. 61, Seite 309, verweisen, bezüglich der Versuche mit Leukozyten auf unsere Untersuchung im Zentralblatt für Bakteriologie Bd. 44, Heft 2, S. 167. Die Leukozytenextrakte wurden durch mehrmaliges Gefrieren der Leukozyten und Wiederauftauen hergestellt und mit den Zellen zusammen verwendet. Die Unterhautgewebsflüssigkeit wurde nach der Methode von Gruber und Futaki durch Einlegen von Wattebäuschchen in das Unterhautzellgewebe und Auspressen derselben gewonnen. Bei dem Zählen der Keime mufs darauf geachtet werden, dafs die Leukozyten nicht mit den kleinen Hühnercholerakolonien verwechselt werden, was zwar bei auch nur geringer Übung nicht vorkommen kann. Zellen und Gewebsflüssigkeiten stammten ausschliefslich von Meerschweinchen.

1) Damit ist allerdings zuzugeben, dafs Bakteriensubstanzen in Aggressinen mittels Immunsera, z. B. durch Komplementbindung nachweisbar, sind, was auch für das Hühnercholeraaggressin der Fall sein kann, wenn man über ein entsprechendes Immunserum verfügt.

Versuch IV.

I.

	ccm		Nach 4 Std.
Unterhautgewebsflüssigkeit . .	0,25	Einsaat ca. 30 000	∞
Unterhautgewebsflüssigkeit zentrifugiert .	0,25		∞
Serum . . .	0,25		∞

II.

	ccm		Nach 4 Std.
Serum . . .	0,5	Einsaat ca. 10 000	∞
Leukozyten in Serum .	0,5		∞
Leukozyt. in Bouillon . .	0,5		∞

III.

	ccm		Nach 4 Std
Serum . . .	0,5	Einsaat ca. 10 000	∞
Leukozyten in Serum .	0,5		∞
Leukozyt. in NaCl + 5 Tr. Bouillon . .	0,5		∞

IV.

	ccm		Nach 6 Std.
Serum . . .	0,5	Einsaat ca. 15 000	∞ ∞ ∞
Leukozyten in Bouillon	0,5		∞ ∞ ∞
Leukozyten in Serum .	0,5		∞ ∞ ∞
Leukozyten-Extrakt in Bouillon .	0,5		∞ ∞ ∞
Leukozyten-Extrakt in Serum . .	0,5		∞ ∞ ∞
Voll-Exsudat	0,5		∞ ∞ ∞
Exsudat-Extrakt . . .	0,5		∞ ∞ ∞

V.

	ccm		Nach 6 Std.
Voll-Exsudat	0,5	Einsaat ca. 10 000	∞ ∞
Exsudat-Extrakt . . .	0,5		∞ ∞
Serum . . .	0,5		∞ ∞

VI.

	ccm		Nach 7 Std.
Serum . . .	0,5	Einsaat ca. 5000	∞ ∞ ∞
Leukozyten in Bouillon	0,5		∞ ∞ ∞
Leukozyten in Serum .	0,5		∞ ∞ ∞
Leukozyten-Extrakt in Bouillon .	0,5		∞ ∞ ∞
Leukozyten-Extrakt in Serum . .	0,5		∞ ∞ ∞
Voll-Exsudat	0,5		∞ ∞ ∞
Exsudat-Extrakt . . .	0,5		∞ ∞ ∞

VII.

	ccm		Nach 7 Std.
Serum	0,5	Einsaat ca. 1200	ca. 100 000
Leukozyten in Bouillon .	0,5		» 100 000
Leukozyten in Serum . .	0,5		» 100 000
Leukozyten - Extrakt in Bouillon	0,5		» 100 000
Leukozyten - Extrakt in Serum	0,5		» 100 000
Voll-Exsudat	0,5		» 100 000
Exsudat-Extrakt . . .	0,5		» 100 000

Diesen Versuchen entnimmt man, dafs weder das Blutserum, noch die Unterhautgewebsflüssigkeit irgendwelche bakterizide Fähigkeiten erkennen lassen. Auch die Leukozyten, weder im lebenden Zustande, noch ihre Extrakte, noch Kombinationen von Zellen und Körperflüssigkeiten weisen irgendwelche keimtötende Fähigkeiten auf. Dies hätte nichts Befremdendes, wenn das Meerschweinchen widerstandslos der Hühnercholerainfektion erliegen würde, was sich dann aus dem Fehlen irgendwelcher Schutzkräfte erklären liefse. Nun besitzt aber gerade das Meerschweinchen eine geringe Resistenz gegenüber den Hühnercholeraerregern, welche eine Erklärung durch die Versuche im Reagenzglase nicht findet, sofern man in der Zerstörung der infizierenden Keime die alleinige Schutzmafsregel des Körpers gegenüber einer Infektion sieht. Da nun die Körperflüssigkeiten des Meerschweinchens keine bakteriziden Schutzkräfte aufweisen, so kann auch das Aggressin nicht dadurch wirken, dafs es durch seinen Gehalt an gelösten Bakterienstoffen die für die bakteriolytische Wirkung nötigen Komplemente absorbiert; denn ein Ausfall desselben konnte ja gleichgültig sein. Es kann aber auch die Aktivität der Körpersäfte im opsonischen Sinne keine Rolle spielen, da die durch Komplementbindung ausgeschaltete opsonische Komponente eine Infektionsbeförderung aus dem Grunde nicht veranlassen kann, da auch eine Leukozytenwirkung im bakteriziden Sinne vollkommen nach unseren Versuchen fehlt. Auch die subkutane Gewebs-

flüssigkeit, der Ort der Resistenz übt mit samt ihren Leukozyten keine zerstörende Wirkung aus. Dieses Fehlen der Leukozytenwirkung ist von ganz besonderem Interesse, und wir haben stets darauf hingewiesen, dafs im Tierkörper auch bei immunen Tieren eine sichtbare Leukozytenwirkung, eine Zerstörung der Hühnercholerabakterien durch Phagozytose keine ausschlaggebende Bedeutung besitzen kann. Wir kommen auf diesen Umstand, der auch hier in den Reagenzglasversuchen abermalige Bestätigung findet, noch zurück.

Die Berechtigung, unsere Reagenzglasversuche auf den Tierkörper zu übertragen, würden wir dann haben, wenn sich zeigen liefse, dafs auch im Körper des Meerschweinchens, trotz Bestehens der Resistenz, die Hühnercholerabakterien nicht abgetötet werden. In früheren Versuchen konnten wir uns davon überzeugen, dafs die Hühnercholerabakterien bei künstlich immunisierten Tieren lebend und vollvirulent noch nach Monaten angetroffen werden. Zu unseren jetzigen Versuchen schienen uns die beiden Kontrolltiere, Meerschweinchen IV und V, geeignet, welche sich gegenüber der Infektion resistent erwiesen hatten, und jetzt (die Zeit nach der Infektion betrug 3 Wochen) an der Infektionsstelle ein erbsengrofses Infiltrat von teigiger Konsistenz aufwiesen. Das Infiltrat wurde steril gespalten, ein Teil des daselbst befindlichen käsigen Eiters mit der Öse entnommen, Deckglaspräparate angefertigt, aufserdem eine Öse Eiter in sterile Bouillon aufgeschwemmt und damit sofort Tiere injiziert. Das übrige ergibt das beifolgende Versuchsprotokoll.

Versuch V.

Meerschweinchen IV u. V. Am 2. Juli. Das an der Injektionsstelle beider Tiere befindliche Infiltrat wird steril gespalten. Die mikroskopische Untersuchung des Aufstriches ergibt neben massenhaft zum grofsen Teil zerfallenen und zum Teil gut erhaltenen Leukozyten spärliche, teils schlecht gefärbte, teils gut erhaltene bipolare feine Stäbchen, die extrazellulär gelagert sind.

Kulturell: Wachstum wie Hühnercholerabazillen.

Eine Öse Eiter von Meerschweinchen IV wird in 10 ccm sterile Bouillon aufgeschwemmt. Davon erhält:

Maus I. 0,25 ccm subkutan.

Stirbt nach 28 Stunden: Im Infiltrat an der Injektionsstelle massenhaft Bakterien, ebenso mikroskopisch im Herzblute.

Kultur aus dem Herzblut: Rein massenhaft Hühnercholerakolonien.

Maus II. 0,1 ccm intraperitoneal. Stirbt nach $6\frac{1}{2}$ Stunden.

Im Bauchhöhlenexsudate und im Herzblute mikroskopisch und kulturell massenhaft Hühnercholerabakterien resp. -kolonien.

Meerschweinchen. 0,25 ccm intraperitoneal.

Stirbt nach weniger als 18 Stunden: Im Bauchhöhlenexsudate massenhaft Hühnercholerabakterien, im Herzblute mikroskopisch und kulturell rein Hühnercholera in grofsen Mengen.

Nach dem Ergebnis dieses Versuches können wir ersehen, dafs Meerschweinchen drei Wochen nach der Infektion lebende, vollvirulente Hühnercholerabakterien an der Infektionsstelle beherbergen. Damit ist vollkommen der Beweis erbracht, dafs die Reagenzglasversuche tatsächlich mit den Vorgängen im Tierkörper übereinstimmen, da auch der lebende Organismus nicht über Mittel verfügt, die Hühnercholerabakterien nicht nur nicht abzutöten, sondern sogar eine Vermehrung zuzulassen, da man annehmen mufs, dafs bei der geringen Infektion der Tiere diese Bakterien nicht einfach die injizierten sind, sondern sogar gewachsen sein müssen. Damit ist aber auch die Rolle, welche die Leukozyten in bezug auf die Abtötung der Hühnercholeraerreger spielen, scharf charakterisiert. Metschnikoff hat unsere Ansicht von dem Versagen der Leukozytenwirkung bei Hühnercholera zum Anlafs genommen, darauf hinzuweisen, dafs unsere diesbezüglichen Mitteilungen nur mit Vorsicht aufzunehmen sind, da die Hühnercholerabakterien zu den kleinsten Mikroorganismen gehören und daher die Phagozytose dem beobachtenden Auge leicht entgehen kann. Da wir selbst von der grofsen Bedeutung der Phagozytose überzeugt sind, so war uns das Fehlen derselben bei Hühnercholera immer sehr überraschend, insbesondere bei dem bei Immuntieren beobachteten Phänomen der nachträglichen Vermehrung, wo in der eitrigen Bauchhöhle massenhaft Hühnercholerabakterien vorhanden sind, welche nur von einigen Makrophagen aufgenommen werden, von den eigentlichen

Freſszellen, den Mikrophagen, aber unberührt bleiben. Dies drängte uns immer zur Anschauung, daſs bei Hühnercholera die Leukozyten nicht durch Phagozytose, sondern auf eine andere Art wirken muſsten, und unsere jetzigen Versuche zeigen, daſs den Leukozyten eine keimzerstörende Funktion bei Hühnercholera überhaupt nicht zukommt. Dies zeigen die Reagenzglasversuche und bestätigen die Versuche im Tierkörper. Welche Wirkung kann den Leukozyten in bezug auf Keimzerstörung zukommen, wenn sie in groſser Zahl angesammelt, nicht imstande sind, im Verlaufe von drei Wochen die wenigen eingespritzten Bakterien abzutöten? Weder intrazelluläre, noch extrazelluläre durch den Zerfall freiwerdende bakterizide Stoffe besitzen die Leukozyten, da im Abszeſs massenhaft zerfallene und aufgelöste Leukozyten zu sehen sind. Auch aus den Glasversuchen geht dies klar hervor, da auch dort weder lebende noch extrahierte Leukozyten irgendwelche abtötende Wirkung ausüben. Pettersson hat in früheren Versuchen gefunden, daſs die Leukozyten auch für Typhusbazillen keine bakteriziden Stoffe besitzen und miſst daher der Leukozytenwirkung bei Typhus gar keine Bedeutung bei. Bei Typhus liegen aber die Verhältnisse doch nicht so extrem wie bei Hühnercholera; denn dort ist intensive Phagozytose vorhanden, welche von ausschlaggebender Bedeutung sein kann. Dieselbe reicht aus, da der Leukozytenzufluſs beim lebenden Tiere unerschöpflich ist, um die eingeführten Keime zu entfernen. Die Leukozyten müssen ja nicht imstande sein, die Keime in ihrem Innern intensiv und rasch abzutöten; es genügt, wenn sich die Bakterien im Innern der Leukozyten nicht vermehren, was bei den Typhusbazillen im Gegensatz z. B. zu den Tuberkelbazillen, wo die Phagozyten mindestens die Mikrophagen, kaum eine Bedeutung besitzt, der Fall ist. Es scheint uns also das Ergebnis unserer bakteriziden Versuche, sowohl im Glase als auch im Körper, von groſser Wichtigkeit für die Auffassung der Aggressinwirkung bei Hühnercholera zu sein, denn es kann das Aggressin, da der Körper keine bakteriziden Schutzkräfte besitzt, nicht durch Bindung derselben wirken.

Die negative Rolle der Leukozyten veranlafste einen anderen Autor, Sauerbeck, gegen die Aggressinanschauung bei Hühnercholera Stellung zu nehmen. Wir möchten an dieser Stelle die Gelegenheit ergreifen, uns an Herrn Sauerbeck zunächst bezüglich der übrigen gegen unsere Aggressinarbeiten geäufserten Bemerkungen, die Herr Sauerbeck in den Ergebnissen von Lubarsch und Ostertag niedergelegt hat, zu wenden. Der betreffende Autor hat auf Grund eigener Versuche, von denen eine Reihe die spezifische Aggressinwirkung bestätigten, zunächst die Richtigkeit der Aggressintheorie nicht bestritten, sondern erst durch die Arbeiten Dörrs sich veranlafst gesehen, seine Ansicht zu ändern und eine ablehnende Haltung gegenüber der Aggressintheorie einzunehmen. Daraus ist zu ersehen, wie wenig Sauerbeck auf seine experimentellen Ergebnisse gibt. Die von ihm mitgeteilten Versuche sind auch in jeder Beziehung technisch höchst mangelhaft und aus dem Grunde auch zum grofsen Teile unbrauchbar. Zur Begründung dieser Worte möchten wir nur auf die Sektionsprotokolle verweisen, die dieser Arbeit beigegeben sind, woraus man entnimmt, dafs von 49 sezierten Tieren 19 sekundäre Verunreinigungen aufweisen, wenn man aufserdem noch in Betracht zieht, dafs bei 3 Tieren eine intraperitoneale Injektion mifsglückt ist, so sind mehr als 44% der Tierversuche, von denen ein Sektionsprotokoll vorliegt, fehlerhaft. Wenn man angesichts dieser Versuche auch den übrigen Experimenten keine allzugrofse Bedeutung beimifst, darf es wohl nicht wundernehmen. Es liegt uns selbstredend jedes persönliche Motiv Herrn Sauerbeck gegenüber ferne, sondern wir glauben, dafs schwierige äufsere Verhältnisse, unter denen Herr Sauerbeck, wie er selbst angibt, gearbeitet hat, die Schuld daran tragen. Da aber Herr Sauerbeck eine kritische, zusammenfassende Übersicht über die Aggressintheorie schreibt, so kann ihm der Vorwurf nicht erspart bleiben, dafs er die Texte unserer Publikationen[1]) nicht genau gelesen und die Ver-

1) Auch die übrigen Autoren, die nicht besser weggekommen sind als wir, werden gelegentlich darauf zurückkommen.

suchsprotokolle nicht ordentlich durchgesehen hat. Sonst hätte er nicht schreiben können, dafs wir bei Streptokokken Immun- und Kontrolltieren die Differenz in bezug auf die Phagozytose nicht sehr verschieden finden konnten, da wir das Gegenteil auf Grund unserer Versuche scharf hervorgehoben haben. Wenn Sauerbeck weiter bei Wiedergabe unserer Untersuchung über den Heubazillus sagt: »Leider erfahren wir nichts von den aus den verschiedenen Passagen gezüchteten Bazillen« und er selbst den am Schlusse unserer Versuche in der Zusammenfassung von uns geschriebenen Satz zitiert: »Es läfst sich nicht behaupten, dafs auf diesem Wege der Subtilis ein pathogener Keim geworden wäre, denn von einer aus dem Aggressintier gewonnenen Kultur konnte mit geringerer Dosis keine Infektion erzielt werden«, was doch so viel heifst, dafs der Subtilis sich durch die Passage nicht verändert, also die von ihm vermifste Beantwortung enthält, so kann das nur darauf beruhen, dafs die Texte nicht entsprechend gelesen wurden.

Die Behauptung Sauerbecks, dafs $1^1/_2$ ccm sterilen Hühnercholeraexsudates allein nach unseren Versuchen mitunter tödlich sind, ist wohl nur ein Druckfehler, denn etwas derartiges geht selbstverständlich aus keinem unserer Experimente hervor. Herr Sauerbeck kann es sich nicht versagen, einen von uns berichtigten Irrtum, dafs wir nämlich die Schweineseucheerreger irrtümlich für einen echten Parasiten gehalten haben, mehrmals aber ohne unsere Berichtigung, die ihm, wie aus seiner Schrift hervorgeht, bekannt ist, zu wiederholen. Diese von uns hier angeführten Richtigstellungen sind nicht aus dem Zusammenhang gerissene Sätze von untergeordneter Bedeutung, sondern gerade für die ganze Auffassung sehr bedeutungsvoll. Wir bedauern eine derartige Wiedergabe unserer Publikationen in einem so hervorragenden Werke, wie die Ergebnisse, die für den breitesten Leserkreis bestimmt sind.

Was unseren vorliegenden Untersuchungsgegenstand betrifft, so wurde Sauerbeck durch die mangelnde Leukozytenwirkung bei Hühnercholera zur Annahme bestimmt, dafs die Hühnercholera nicht in den Rahmen der Aggressintheorie passe,

während wir gerade diesen Mikroorganismus für den geeignetsten hielten, da er unserer Ansicht nach sämtliche Forderungen, welche die Aggressintheorie stellt, am besten erfüllte.

Sauerbecks Ansicht aber ist folgende: Da die Aggressivität in der Vermehrungsfähigkeit der Mikroorganismen durch die Unterdrückung der Schutzkräfte, hauptsächlich der Leukozyten, besteht, so müssen die Leukozyten bei Immuntieren eine hervorragende Rolle spielen, und zwar durch Phagozytose. Da aber aus vielen unserer Versuche hervorgeht, dafs sich die Hühnercholerabakterien bei Immuntieren vermehren, und dafs aufserdem eine Leukozytenwirkung in bezug auf Phagozytose fehlt, so sprechen unsere Immunitätsversuche direkt gegen die Auffassung einer antiaggressiven Immunität, da die antiaggressive Immunität eine phagozytäre sein müsse, bei welcher es zu einer Vermehrung nicht kommen darf. Gegen diese Fassung läfst sich nun sehr vieles einwenden. Zunächst ist die Annahme Sauerbecks, dafs die Aggressinimmunität eine phagozytäre sein müsse, völlig willkürlich und von uns nie ausgesprochen worden. Sauerbeck hält sich zu dieser Anschauung berechtigt, weil Bail insbesondere bei Typhusimmuntieren eine starke Phagozytose beschrieben und darin das Wesen der Immunität erblickt hat im Gegensatz zur bakteriziden Immunität, wo die Auflösung der Typhusbazillen in der freien Bauchhöhlenflüssigkeit ohne wesentliche Mitbeteiligung der Leukozyten erfolgt. Es lag Bail aber ferne, diese bei Typhus gemachten Beobachtungen auf alle übrigen Bakterien auszudehnen und die antiaggressive Immunität als eine rein phagozytäre hinzustellen. Es waren ja Bail zu der Zeit, als er seine Typhusversuche mitteilte, unsere Hühnercholeraversuche bekannt, wo eine phagozytäre Leukozytenwirkung nicht als Ursache der Immunität angesehen werden konnte und wo wir über den Mechanismus der Immunität nichts Bestimmtes aussagen konnten, eine Äufserung, die Herrn Sauerbeck sehr herabstimmte. In einer weiteren Untersuchung über den Mechanismus nicht bakterizider Immunität glaubten wir dann die Immunität gegen Hühnercholera auf folgende Weise erklären zu können: Der Hühnercholerabazillus ist durch seine Aggressivität

befähigt, sich schrankenlos zu vermehren und die natürlich wirkenden Schutzkräfte zu beseitigen. Die Immunität, welche nicht bakterizid, d. h. nicht gegen die Bakteriensubstanz gerichtet ist, sondern gegen die Eigenschaft des Hühnercholerabazillus, sich widerstandslos zu vermehren, besteht aber darin, dafs ihm diese Eigenschaft, seine Aggressivität, genommen ist, was durch Vermittlung und Mitwirkung der natürlichen Schutzkräfte (Leukozyten und Leukozytenprodukte) geschieht. Letztere sind für die erfolgreiche Immunität unbedingt notwendig, da eine Ausschaltung derselben die Tiere trotz Immunserums widerstandslos macht. Wenn es trotz bestehender Immunität manchmal zu einer beträchtlichen Vermehrung kommen kann, dem interessanten Phänomen der nachträglichen Vermehrung, so spricht das unserer Anschauung nach absolut für das Wesen der Aggressinimmunität und nicht dagegen, wie Sauerbeck meint. Durch die Entdeckung der antiaggressiven Immunität sollte ja gezeigt werden, dafs die bakteriolytische Immunität unzureichend ist, dafs gerade die echte Immunität nicht gegen die Bakteriensubstanz gerichtet ist. Wenn es bei dieser Form zu einer Vermehrung der eingeführten Keime kommen kann, ohne dafs die Gesundheit des Tieres geschädigt wird, was bei der bakteriziden Immunität nicht der Fall ist, so mufs man bedenken, dafs eine derartige Vermehrung in der Natur der Sache durch das Fehlen jeglicher bakterizider Fähigkeiten der Immuntiere bedingt ist. Aggressivität befähigt ja die Bakterien zu einer schrankenlosen, alle Schutzmittel durchbrechenden Vermehrung. Dazu kommt es aber bei der »nachträglichen Vermehrung« nicht, die Hühnercholerabazillen vermehren sich nicht widerstandslos, sie sind nicht imstande, die Leukozyten als natürlich wirkende Schutzkräfte, welche dabei in grofser Menge vorhanden sind, zu verdrängen. Dieser Umstand, der das ganze Wesen dieser Erscheinung beherrscht, wurde von uns sehr genau betont. Dafs die Leukozyten hierbei nicht durch Phagozytose zu wirken brauchen, sondern dafs dieselben auch andere Funktionen haben und ausüben können, ist Sauerbeck ebenso bekannt wie uns. Wenn für diese Immunität der Name Adaptionsimmunität ein-

geführt werden soll, so läfst sich dies, wenn wir Sauerbeck recht verstanden haben, doch nicht für die passive Immunität tun, wo wir diese Erscheinungen ebenfalls und hauptsächlich beobachtet haben und wo von einer Anpassung der Bakterien doch nicht die Rede sein kann. Wenn Sauerbeck diese Immunität für eine antitoxische hält, so haben wir dies bekanntlich ebenfalls früher schon erwogen. Wir stehen aber zu sehr auf dem Boden des Experimentes, um von antitoxischer Immunität zu sprechen bei einem Tiere, wo der Tod augenscheinlich durch Vergiftung nicht zustande kommt, und wo von einem Gift nichts bekannt ist; aufserdem zeigen Mikroorganismen, welche durch Vergiftung töten, genau das gegenteilige Verhalten bei der Injektion wie die Erreger der Septikaemie. Wir glauben, dafs die spekulativen Einwände Sauerbecks nicht geeignet sind, die Auffassung von der Aggressivität und der antiaggressiven Immunität bei Hühnercholera zu entkräften.

Für die infektionsbefördernde Wirkung aggressiver Flüssigkeiten kann aufser Giftigkeit und Ausschaltung bakterizider Schutzkräfte noch folgendes in Betracht kommen. Wir konnten in früheren Versuchen zeigen, dafs komplementbindende Mittel die Schutzwirkung des Hühnercholera-Immunserums aufheben, obzwar das Komplement hier keine bakterizide Wirkung hat. Es ist deshalb auch wahrscheinlich, dafs komplementbindende Stoffe auch die Hühnercholera-Infektion beschleunigen, indem eine Verarmung des Körpers an Komplement die Widerstandsfähigkeit herabsetzt. Dann müfste aber das Komplement aufser der bakteriziden und auch opsonischen noch eine andere Wirkung aufweisen. Es ist also die Möglichkeit vorhanden, dafs auch das Hühnercholeraaggressin als komplementbindendes Mittel wirken kann, indem die gelösten Bakterienstoffe dann wie ein Bakterienextrakt wirken würden. Nun wissen wir aber schon von früheren Versuchen (Bail und Weil), dafs der Gehalt der Aggressine an Bakteriensubstanzen ein so geringer ist, dafs sie nicht Komplement absorbieren; trotzdem haben wir auch das zu unseren Versuchen verwendete Hühnercholeraaggressin nach der Richtung hin untersucht.

Versuch VI.

Aggressin	Komplement. (Meerschw.-Serum)		Amboceptor. Kan.-Serum	Rinderblut 5%	Nach 2 Std.	27 Std.
0,5	0,1	1 Stunde bei 37°	0,01	1 ccm	Geringe Hemmung	fast komplett.
0,3	0,1		0,01	1 »	komplett.	komplett.
0,2	0,1		0,01	1 »	»	»
0,1	0,1		0,01	1 »	»	»
0,5	—		0,01	1 »	0	0
—	0,1		0,01	1 »	komplett.	komplett.
—	0,1		—	1 »	0	0
—	—		0,01	1 »	0	0

Diese Tabelle zeigt, dafs das Hühnercholeraggressin die Fähigkeit, das Meerschweinchenkomplement, welches ja für unsere Versuche ausschliefslich eine Bedeutung hat, unwirksam zu machen, nicht besitzt. Die geringe Hemmung in der stärksten Konzentration ist deshalb bedeutungslos, weil in dieser Menge sehr viele inaktive normale Kaninchensera hemmend wirken. In der Konzentration aber, in welcher infektionsbefördernde Bakterienextrakte Komplement absorbieren (0,05—0,1 ccm) tritt keine Spur von Komplementverbrauch ein. Die Infektionsbeförderung, welche Citron und Pütz erzielt haben, kann möglicherweise darauf zurückgeführt werden, dafs das künstliche Aggressin als Bakterienextrakt komplementbindend wirkt, obzwar zugegeben werden mufs, dafs durch den intensiven Eingriff des Schüttelns das in den Bakterien enthaltene Aggressin extrahiert werden könnte. Jedenfalls ist es aber in der von den beiden Autoren verwendeten Flüssigkeit nur in geringer Menge vorhanden, was sowohl aus der infektionsbefördernden Wirkung, als aber insbesondere aus den mifsglückten Versuchen, mit dem künstlichen Aggressin zu immunisieren, hervorgeht. Ein Vergleich mit dem natürlichen Aggressin zeigt, wie ungemein leicht und in welcher Menge letzteres im Tierkörper im Verlaufe der Infektion in Stunden sich bildet, was dafür spricht, welche wichtige Rolle das Aggressin für das Zustandekommen einer erfolgreichen Infektion spielt. Nur die Auffindung des Aggres-

sins im Tierkörper ist bedeutungsvoll für die Erklärung der Infektion, während künstliche aufserhalb des Körpers gefundene oder hergestellte infektionsbefördernde Flüssigkeiten nur von untergeordneter Bedeutung für die Vorgänge im Körper sind, was die noch nicht veröffentlichte Versuche Jobblings bei Diphtherie beweisen. Da nun, wie aus dem Gesagten hervorgeht, das Hühnercholeraaggressin auch nicht durch Komplementbindung wirkt, so kann ein Bindungsvorgang im gewöhnlichen Sinne überhaupt nicht die infektionsbefördernde Aggressinwirkung erklären.

Wenn wir es in diesen Versuchen unternommen haben, die Wirkungsweise des Hühnercholeraaggressins zu erklären, so konnten wir zwar zeigen, dafs sämtliche gegen die Aggressinwirkung vorgebrachten Einwände für das Hühnercholeraaggressin nicht zutreffen. Es ist uns aber nicht gelungen, eine Erklärung der Aggressinwirkung im Detail zu geben. Doch ist es vielleicht möglich, gerade aus den negativen Versuchen per exclusionem eine befriedigende Erklärung zu finden. Bail und seine Anhänger haben sich die Aggressinwirkung so vorgestellt, dafs sie von der Annahme ausgingen, die Bakterien seien durch ihre Aggressivität befähigt, die Schutzkräfte des Organismus zu überwinden. Dies darf jedoch nicht so verstanden werden, als ob dem Aggressin allein die Fähigkeit zukäme, die Schutzkräfte zu lähmen, denn es wurde stets betont, dafs das Aggressin allein sich ganz gleichgültig gegenüber den Schutzkräften des Körpers verhält. Erst mit den Bakterien zusammen übt es seine Wirkung aus. Es ist ganz selbstverständlich, dafs nur auf diese Weise eine spezifische Aggressinwirkung, welche, wie neuerdings wieder Kruse betont, vorhanden ist, erklärt werden könne. Nur in dem Falle, dafs z. B. das Aggressin durch seine Giftigkeit oder durch Komplementbindung wirken würde, könnte selbstverständlich von einer spezifischen Aggressinwirkung keine Rede sein, und jene Autoren, welche vom Aggressin eine nicht spezifische Wirkung vorausgesetzt haben, haben diesen Punkt in dem von uns erörterten Sinne mifsverstanden. Es ist aber nicht zu leugnen, dafs man Schwierigkeiten begegnet, wenn man die Aggressin-

wirkung aus dem Zusammenwirken von Aggressin und Bakterien erklären will. Wenn wir diese Erklärung auf Grund unserer vorliegenden Versuche bei Hühnercholera versuchen wollen, müssen wir von folgenden Gesichtspunkten ausgehen. Der Hühnercholerabazillus ist vermöge seiner Organisation befähigt, in der allergeringsten Individuenzahl, wahrscheinlich in der Keimeinzahl, empfänglichste Tiere (Kaninchen) zu töten. Dies vermag er dadurch, dafs er den Schutzkräften, die der Körper gegenüber einer Infektion aufzubringen imstande ist, widersteht. Diese Fähigkeit nennen wir seine Aggressivität und stellen uns vor, dafs dieselbe an einen Stoff, das Aggressin, gebunden ist, welches im Bakterienleib enthalten, im Tierkörper, um die Infektion zu ermöglichen, leicht abgegeben wird. Nun besitzt aber das Meerschweinchen von der Subcutis aus eine gewisse Resistenz gegenüber dem Hühnercholerabazillus. Diese kann nicht darauf zurückgeführt werden, dafs der Hühnercholerabazillus im Unterhautzellgewebe des Meerschweinchens abgetötet wird, da diesem Tiere jegliche bakteriziden Fähigkeiten fehlen. Die Resistenz kann nur darauf beruhen, dafs dem Hühnercholerabazillus im Unterhautzellgewebe des Meerschweinchens seine sonst schrankenlose Vermehrungsfähigkeit fehlt. Diese erlangt er erst wieder, wenn die Infektion mit einer gröfseren Bakteriendosis vorgenommen wird. Er verhält sich also hier wie ein Mikroorganismus geringerer Virulenz, wie ein Halbparasit. Wenn wir dies mit Hilfe der Aggressintheorie erklären wollen, so müssen wir das so auffassen, dafs der Hühnercholerabazillus im Unterzellgewebe des Meerschweinchens zu wenig Aggressin bildet, um sich widerstandslos zu vermehren, wie etwa ein Typhusbazillus oder Streptokokkus in der untertödlichen Dosis. Die Richtigkeit dieser Vorstellung haben wir auch experimentell damit bewiesen, dafs wir dem Hühnercholerabazillus durch den Ersatz des Aggressins, das wir ihm im fertigen Zustand mit eingespritzt haben, seine fehlende Aggressivität mitgegeben haben, wodurch er dann auch imstande ist, auch vom natürlich resistenten Infektionsort aus durch widerstandslose Vermehrung den Tod herbeizuführen. Nun kann das eingespritzte Aggressin,

welches, wie unsere Versuche gezeigt haben, nicht die bekannten humoralen und zellulären Schutzmittel beeinflufst, auf zweierlei Weise wirken. Es kann direkt auf die Bakterien wirken, ihre Vitalität erhöhen und dadurch ihre Vermehrung veranlassen, oder es kann den Organismus der Tieres derart beeinflussen, dafs die gegen den betreffenden Mikroorganismus wirkenden Kräfte ausgeschaltet werden. Diese könnten aber nur solche sein, welche den Mikroorganismus nicht direkt angreifen, sondern nur gegen seine Fähigkeit, die Aggressivität zu entfalten, gerichtet sind, wodurch ebenfalls wieder die Vitalität der Mikroorganismen gesteigert wird. Dafür kämen auf natürliche Weise wirkende antiaggressive Kräfte, welchen, wie allen normalen, im Körper wirkenden Stoffen, eine gewisse Spezifität zukommen kann. Auch bei der ersteren Wirkungsmöglichkeit wäre Spezifität vorhanden, da das Hühnercholeraaggressin z. B. nicht auf den Typhusbazillus, sondern nur auf den Hühnercholerabazillus wirken würde. Es wird das Ziel weiterer Versuche sein, sowohl die erste Möglichkeit zu prüfen, als auch zu untersuchen, ob der normale Organismus über Kräfte verfügt, welche, ohne gegen die Bakteriensubstanz gerichtet zu sein, doch für den Organismus bedeutungsvoll genug sind, um sich gegen eine Infektion erfolgreich zu wehren.

Zusammenfassung.

Wenn wir die Resultate unserer Versuche zusammenfassend überblicken, so gelangen wir, indem wir uns strenge an die Ergebnisse der hier mitgeteilten Versuche halten, bezüglich der Wirkungsweise des Hühnercholeraaggressins zu folgenden Schlüssen:

1. Das Hühnercholeraaggressin besitzt in hohem Mafse die Fähigkeit der Infektionsbeförderung, denn es erzeugt eine Infektion mit einer Bakterienmenge, die weit unter der tödlichen Infektionsdosis liegt, da Kontrolltiere der 10fach gröfseren Menge gegenüber resistent sind, welche Dosis ebenfalls nicht die knapp untertödliche darstellt.

2. Die Ursache der Infektionsbeförderung kann nicht darin liegen, dafs das Aggressin durch Giftschädigung die Widerstandsfähigkeit des Tieres herabsetzt, da die achtmal gröfsere Menge (12 ccm) als zur Infektionsbeförderung nötig ist (1,5 ccm) ohne Schaden von den Tieren, die zu den Aggressinversuchen verwendet wurden (Meerschweinchen) vertragen wird. Auch zeigt das Aggressin für andere Tiere keine Giftigkeit, was mit den Befunden älterer Versuche (Stang) übereinstimmt.

3. Eine Ausschaltung bakterizider Anteile der Körperflüssigkeiten kann ebenfalls nicht die Infektionsbeförderung zur Folge haben, weil die Gewebesäfte des Meerschweinchens keine bakteriziden Fähigkeiten gegenüber dem Hühnercholerabazillus besitzen.

4. Auch eine Inaktivierung der Säfte im opsonischen Sinne kann bei der Aggressinwirkung keine Rolle spielen, weil auch die Leukozyten keine die Hühnercholerabazillen abtötenden Eigenschaften besitzen, weder allein noch in Kombination mit allen Opsonin enthaltenden Flüssigkeiten.

5. Ein Bindungsvorgang überhaupt kann für die Aggressinwirkung aus dem Grunde nicht in Betracht kommen, weil durch den sehr geringen Gehalt an gelösten Bakteriensubstanzen das Hühnercholeraaggressin nicht komplementbindend wirkt, worin es mit den übrigen Aggressinen übereinstimmt.

Diese unseren Versuchstatsachen streng angepafsten Schlüsse erbringen unserer Ansicht nach den Beweis, dafs sämtliche Einwände, die bisher gegen die Aggressinwirkung vorgebracht wurden, bei dem Hühnercholerabazillus keine Berechtigung haben, und wir glauben auch, dafs die bei den Aggressinen anderer weniger aggressiver Bakterien gewonnenen Erfahrungen[1], nämlich die

1) Der Gehalt der Aggressine an gelösten Bakteriensubstanzen und deren Giftigkeit ist von den betreffenden Autoren weit übertrieben worden. In unserem Institute konnten die diesbezüglichen Angaben in sehr zahlreichen Versuchen nicht bestätigt werden. Wir wissen nicht mit Bestimmtheit, worauf diese Differenzen beruhen. Doch möchten wir z. B. darauf hinweisen, dafs es Dörr nicht gelungen ist, mit Aggressin gegen Typhus oder Koli zu immunisieren. Gerade in jüngster Zeit ist die Immunisierung gegen

Giftigkeit und die freien Rezeptoren auch dort von untergeordneter Bedeutung sind und die reine Aggressinwirkung nur störend beeinflussen.

Um noch den letzten Punkt zusammenfassend wiederzugeben, so gehen wir allerdings über unsere Experimente hinaus, wenn wir die Wirkung des Aggressins darauf zurückführen, dafs es entweder

6. direkt auf die entsprechenden Bakterien wirkt, oder darauf, dafs das Aggressin normalerweise wirkende antiaggressive Kräfte paralisiert.

Typhus in schönster Weise auch anderen Autoren sogar mit künstlichem Aggressin gelungen, dessen Wirksamkeit im Vergleich mit dem natürlichen Aggressin, wie diese Autoren zugeben, gering ist. Aufserdem wird die hohe Immunisierungsfähigkeit der Aggressine auch von den Gegnern zugegeben. Wir glauben deshalb, dafs die betreffenden Autoren vielfach zwar mit Exsudaten, aber nicht mit aggressiven Flüssigkeiten gearbeitet haben. Dadurch würde sich dann allerdings die Giftigkeit und der Gehalt an gelösten Bakterienstoffen erklären.

Literatur.

Bail, Zentralblatt f. Bakt. Bd. 37.
Derselbe, Archiv f. Hygiene. Bd. 52.
Bail und Weil, Zentralblatt f. Bakt. Bd. 42.
Citron und Pütz, Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 56.
Dörr, Zentralblatt f. Bakt. Bd. 41.
Flexner, Zentralblatt f. Bakt. Bd. 43.
Gruber und Futaki, Münchener med. Wochenschrift. 1907, Nr. 5.
Kikuchi, Archiv f. Hygiene. Bd. 52.
Derselbe, Archiv f. Hygiene. Bd. 54.
Kruse, Deutsche med. Wochenschrift. 1907.
Metschnikoff, Ergebnisse von Lubarsch u. Ostertag. 1906.
Pettersson, Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. 63.
Derselbe, Zentralblatt f. Bakt. Bd. 40.
Sauerbeck, Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 56.
Derselbe, Ergebnisse von Lubarsch u. Ostertag. 1906.
Salus, Archiv f. Hygiene. Bd. 56.
Wassermann und Citron, Deutsche med. Wochenschrift. 1905, Nr. 28.
Weil, Archiv f. Hygiene, Bd. 52. Ebenda, Bd. 54. Ebenda, Bd. 61. Zentralblatt f. Bakt. Bd. 44. Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 56.

Über die Ätiologie der Dysenterie.

Von

Dr. med. **Nakao Abe.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kyoto.
Direktor: Prof. Dr. T. Matsushita.)

Nachdem im Jahre 1875 Lösch[1]) im Kot von Dysenterie-kranken eine Amöba entdeckt hatte, wies später auch R. Koch[2]) in dem Darmschnittpräparat der Dysenterieleiche dieselbe Amöba nach. Auch Kartulis[3]) fand diese Amöba im Jahre 1886 in Ägypten im Dickdarminhalt und in den dysenterieschen Geschwüren, sowie in den bei Dysenterie nicht selten vorkommenden Leber- und Lungenabszessen. Viele Forscher (Osler[4]), Councilman und Lafleur[5]), Quincke und Roos[6]) Kruse und Pasquale[7]) u. a.) halten jedoch die Amöba nur für den Erreger einer bestimmten Dysenterieform, nämlich der Amöbendysenterie.

Andere Forscher (Ziegler[8]), Ogata[9]), Grigorieff[10]), De Silvestri[11]), Maggiora[12]), Arnaud[13]), Celli und Fiocca[14]) u. a.) meinen, dafs die epidemische Dysenterie durch Bakterien verursacht wird. Alle genannten Forscher haben verschiedene Mikroorganismen als Erreger der Dysenterie beschrieben, doch sind ihre Ansichten nicht zutreffend. Erst im Jahre 1898 hat Shiga[15]) echte Erreger der Dysenterie durch Agglutination gefunden, und im Jahre 1900 hat Kruse[16]) dieselben nachgewiesen. Gay und Duval[17]) schrieben, dafs es zwei verschiedene Typen des Dysenteriebazillus gibt; dagegen hat kürzlich Ono[18]) 15 verschiedene Typen unterschieden. Galli-Valerio[19]), Vala-

gussa[20]), Escherich[21]) u. a. sind der Meinung, dafs der Bacillus dysenteriae Shiga eine Abart des Bacillus coli communis ist, während nach Deycke[22]) beide verwandt sein sollen. Ich stehe auch auf dem Standpunkt, dafs der Bazillus Shigas zur Gattung des Kolonbazillus gehört, und dafs er möglicherweise eine Abart des Bacillus coli communis ist.

Allgemein nimmt man an, dafs die Ursache der Dysenterie in den Tropen eine Amöba und in der gemäfsigten Zone ein Bazillus ist.

Unter Leitung des Herrn Prof. Matsushita habe ich im vorigen Jahre in dem Bezirk Satsuma in Südjapan die Ursache der Dysenterie studiert und im Darminhalt Dysenteriekranker weder die Amöba coli noch den Bacillus dysenteriae Shiga gefunden, sondern einen dem Bacillus coli communis ähnlichen Bazillus isoliert, welcher sich durch Zusatz von ziemlich stark verdünntem Serum von demselben Kranken deutlich agglutiniert. Aus dem Darminhalt von 42 Dysenteriekranken, welche in den Hospitälern für Infektionskrankheiten zu Iriki-Mura, Ichiki-Mura, Ishiki-Mura, Nakagunu-Mura und der Stadt Kagoshima aufgenommen waren, wurden durch Agarplattenkulturen die Bakterien isoliert und mittels Blutserum, das durch Aderlafs oder Blasenpflaster gewonnen wurde, Agglutinationsversuche gemacht. Die Resultate meiner Versuche sind folgende:

Versuch 1. Patientin K. F., Bäuerin, 34 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 29. August 1906. Am nächsten Tage Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura.

Am 7. September untersuchte ich mikroskopisch und bakteriologisch den Darminhalt, der blutigschleimig war, und fand im Deckglaspräparat keine Amöbe, aber viele Bazillen. Auf Agarplatten entwickelte sich ein Bazillus, wie bei Reinkulturen, der den Bacillus coli communis ähnliche Kolonien bildete. Dieser Bazillus agglutiniert sich durch den Zusatz von 300 fach verdünntem Blutserum, das von derselben Patientin durch Aderlafs entnommen wurde. Ich werde diesen Bazillus mit I bezeichnen.

Versuch 2. Patient Kr. F, Bauer, 25 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 24. August 1906.
Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura: 28. August.
Untersuchung des Kotes: 7. September.

Darminhalt ist makroskopisch blutigschleimig, in den Deckglaspräparaten sind keine Amöben, sondern Bazillen vorhanden. Aus Agarplatten wurde der Bazillus II isoliert, welcher sich in Reinkultur entwickelte und durch Zusatz von Blutserum, das von demselben Patienten durch Aderlafs gewonnen wurde, bei 200 facher Verdünnung deutlich, bei 300 facher Verdünnung nur spärlich sich agglutinierte.

Versuch 3. Patient S. J., 6 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 9. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura: 12. August.

Am 7. September untersuchte ich den Kot, welcher schleimig war, und fand keine Amöbe, sondern Bazillen. Auf Agarplatten entwickelte sich Bazillus III in Reinkultur. Dieser Bazillus agglutiniert sich deutlich durch Zusatz von 500 fach verdünntem Blutserum, das von anderen Dysenteriekranken gewonnen wurde.

Versuch 4. Patient G. T., Bauer, 54 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 13. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura: 15. August.

Am 7. September untersuchte ich den Stuhl, welcher schleimig war, und fand in den mikroskopischen Präparaten nur Bakterien. Auf Agarplatten entwickelte sich Bazillus IV in Reinkultur, welcher nach dem Zusatz von 300 fach verdünntem Blutserum, das von demselben Patienten durch Aderlafs entnommen wurde, deutliche Agglutination zeigte.

Versuch 5. Patient T. S., 3 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 14. August 1906.

Aufnahme in das Hospital Iriki-Mura: 16. August.

Am 7. September entleerte das Kind noch schleimigen Stuhl, welcher keine Amöbe, sondern den Bazillus V enthielt. Agglutinationsversuch wie bei dem Bazillus III.

Versuch 6. Patientin H. J., 9 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 9. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura: 12. August.

Am 7. September untersuchte ich den Kot, der schleimig war, und fand Bazillus VI, aber keine Amöbe. Agglutinationsversuch wie bei dem Bazillus III.

Versuch 7. Patient Hd. J., Bauer, 42 Jahre alt.

Während er die in das Hospital zu Iriki-Mura aufgenommenen Dysenteriekranken pflegte, erkrankte er selbst am 15. August 1906 an Dysenterie. Am 7. September untersuchte ich den Kot, welcher blutigschleimig war, und fand den Bazillus VII, der in 300 fach verdünntem, durch Aderlafs von demselben Patienten entnommenen Blutserum deutliche Agglutination zeigt. In Deckglaspräparaten fand ich keine Amöbe.

Versuch 8. Patientin M. J., 7 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 22. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura: 23. August.

Am 7. September habe ich aus ihrem schleimigen Kot den Bazillus VIII isoliert; eine Amöbe ist nicht nachweisbar. Agglutinationsversuch wie bei dem Bazillus III.

Versuch 9. Patient D. F., Bauer, 57 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 7. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura: 9. August.

Am 7. September habe ich aus seinem schleimigen Kot den Bazillus IX isoliert. Amöben sind nicht vorhanden. Agglutinationsversuch wie bei dem Bazillus III.

Versuch 10. Patientin M. F., Bäuerin, 64 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 24. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Iriki-Mura: 26. August.

Am 7. September untersuchte ich den Kot, welcher schleimig war, und fand in Deckglaspräparaten viele, dem Bacillus coli communis ähnliche Bazillen, aber keine Amöben. Die Isolierung der Bakterien ist unglücklicherweise nicht gelungen. Das durch Aderlafs von derselben Patientin gewonnene Blutserum läfst die aus anderen Kranken isolierten Bazillen bei 300facher Verdünnung deutlich agglutinieren.

Versuch 11. Patient S. N., Bauer, 19 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 3. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura: 4. August.

Am 14. September habe ich aus seinem aus Blut, Eiter und Schleim bestehenden weichen Stuhl den Bacillus XI isoliert. Dieser Bazillus agglutiniert sich durch den Zusatz von 300fach verdünntem Blutserum, das von demselben Patienten mittels Blasenpflaster entnommen wurde. Amöben sind in diesem Stuhl nicht vorhanden.

Versuch 12. Patient A. M. 11 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 12. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura: 13. August.

Am 14. September untersuchte ich seinen schleimigen Kot und fand in mikroskopischen Präparaten keine Amöbe, aber viele Bazillen. Aus Agarplatten isolierte ich den Bazillus XII, der durch den Zusatz von 300fach verdünntem Serum von demselben Patienten deutlich agglutiniert wurde.

Versuch 13. Patient Y. T., 8 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 9. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura: 13. August.

Untersuchung des Kotes: 14. September.

Darminhalt war schleimig, in den Deckglaspräparaten sind keine Amöben, sondern Bazillen vorhanden. Aus Agarplatten wurde der Bazillus XIII isoliert, welcher sich durch Zusatz von Serum, das von demselben Patienten mittels Blasenpflaster gewonnen wurde, bei 500facher Verdünnung deutlich agglutinierte.

Versuch 14. Patient S. M., 6 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 15. August 1906.

Sofortige Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura.

Am 14. September untersuchte ich den Kot, der gelblich und weich war und Schleim enthielt. In Präparaten keine Amöben. Auf Agarplatten entwickelte sich der Bazillus XIV in Reinkultur. Agglutinationsversuch wie bei dem Bazillus III.

Versuch 15. Patient S. T., 15 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 18. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura: 19. August.

Untersuchung des Kotes: 14. September.

Amöben wurden nicht vorgefunden. Aus dem schleimigen Kot isolierte ich den Bazillus XV, welcher nach dem Zusatz von 500fach verdünntem Serum, das von demselben Patienten mittels Blasenpflaster entnommen wurde, deutliche Agglutination zeigte.

Versuch 16. Patient S. Mu., 4 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 18. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura: an demselben Tage.

Aus dem schleimigen gelblichen Kot isolierte ich am 14. September den Bazillus XVI, welcher durch den Zusatz von 500fach verdünntem Blutserum, das ich von anderen Patienten entnommen hatte, deutlich agglutiniert wurde. Amöbenbefund in Präparaten negativ.

Versuch 17. Patient R. M., 16 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 18. August 1906.

An demselben Tage wurde der Patient in das Hospital zu Ichiki-Mura aufgenommen. Da er am 14. September bereits in der Heilung begriffen war, habe ich mit seinem Kot keine Plattenkultur angelegt. Aus anderen Dysenteriekranken isolierte Bazillen agglutinierten sich aber durch den Zusatz von 300fach verdünntem Blutserum, welches mittels Blasenpflaster von diesem Patienten gewonnen wurde.

Versuch 18. Patient D. T., Bauer, 44 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 21. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura: 22. August.

Sonst wie bei Versuch 17.

Versuch 19. Patientin K. S., Bäuerin, 33 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 22. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ichiki-Mura: 24. August.

Am 14. September untersuchte ich den Kot, der blutigschleimig war, und fand in Präparaten keine Amöben, sondern Bazillen. Auf Agarplatten entwickelte sich der Bazillus XIX in Reinkulturen, welcher durch den Zusatz von 300 fach verdünntem Blutserum, das von derselben Patientin mittels Blasenpflaster entnommen wurde, spärlich agglutiniert wurde.

Versuch 20. Patient S. J., 16 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 27. August 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 29. August.

Am 19. September habe ich seinen blutschleimigen Kot untersucht und in Deckglaspräparaten zahlreiche, dem Bacillus coli communis ähnliche Bazillen, aber keine Amöben gefunden. Das von diesem Patienten mittelst Blasenpflaster erhaltene und 300 fach verdünnte Blutserum läfst die Bazillen, welche von anderen Kranken isoliert werden, deutlich agglutinieren.

Versuch 21. Patientin K. T. Bäuerin, 40 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 4. September 1906. An demselben Tage wurde die Patientin in das Hospital zu Ishiki-Mura aufgenommen. Die Beschaffenheit des Kotes und das Resultat der Untersuchung sind wie bei Versuch 20.

Versuch 22. Patient S. H., Bauer, 42 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 2. September 1906.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Beschaffenheit des Kotes schleimig.

Resultat der Untersuchung: wie bei Versuch 20.

Versuch 23. Patientin K. J., Bäuerin, 37 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 4. September 1906.

Sonst wie bei Versuch 22.

Versuch 24. Patientin M. U., Bäuerin, 18 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 6. September 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 7. September.

Sonst wie bei Versuch 22.

Versuch 25. Patient K. U., 12 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 7. September 1906.

Das Kind wurde an demselben Tage in das Hospital zu Ishiki-Mura aufgenommen. Am 19. September habe ich seinen blutigschleimigen Kot

untersucht und den Bazillus XXV gefunden, welcher durch den Zusatz von 500fach verdünntem Blutserum, das von demselben Kind mittels Blasenpflaster gewonnen wurde, deutliche Agglutination zeigte. Amöbenbefund negativ.

Versuch 26. Patientin J. T., Bäuerin, 26 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 7. September 1906.
Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 11. September.
Untersuchung des Kotes: 19. September.
Beschaffenheit des Kotes: blutig, schleimig.
Sonst wie bei Versuch 20.

Versuch 27. Patientin S. U., Bäuerin 42 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 11. September 1906.
Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 12. September.

Am 19. September habe ich aus den blutigschleimigen Stuhl den Bazillus XXVII isoliert, welcher nach dem Zusatz von 300fach verdünntem Serum, das von einem anderen Patienten entnommen wurde, sich agglutinierte. Amöbenbefund negativ.

Versuch 28. Patientin M. Y., Bäuerin, 28 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 11. September 1906.

Am 19. Sept. habe ich aus ihrem blutigschleimigen Kot Bazillus XXVIII isoliert, welcher durch Zusatz von, von derselben Patientin mittels Blasenpflaster entnommenem, 300fach verdünntem Serum spärliche Agglutination zeigte. Amöben waren nicht vorhanden.

Versuch 29. Patient S. T., 3 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 13. September 1906.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Beschaffenheit des Kotes: blutig, schleimig.

Der aus diesem Kot isolierte Bazillus XXIX agglutiniert sich durch den Zusatz von 300fach verdünntem Blutserum, das von anderen Patienten gewonnen wurde. Amöben sind im Kot nicht nachweisbar.

Versuch 30. Patient S. Y., 3 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital zu Ishiki-Mura: 16. September 1906.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Sonst wie bei Versuch 29; den isolierten Bazillus bezeichne ich mit XXX.

Versuch 31. Patientin T. J., Bäuerin, 50 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 25. August 1906.
Aufnahme in das Hospital zu Nakagunu-Mura: 29. August.
Untersuchung des Kotes: 19. September.

Der aus dem blutigschleimigen Kot isolierte Bazillus XXXI agglutinierte sich spärlich durch Zusatz von 300 fach verdünntem Blutserum, das von derselben Patientin gewonnen wurde. Im Kot ist keine Amöbe nachweisbar.

Versuch 32. Patient G. S., 6 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 2. September 1906.
Aufnahme in das Hospital zu Nakagunu-Mura: 5. September.

Am 19. September untersuchte ich dessen schleimigen Kot und fand ich in mikroskopischen Präparaten keine Amöbe, aber viele Bazillen. Auf Agarplatten entwickelte sich der Bazillus XXXII in Reinkultur. Durch den Zusatz von anderen Kranken entnommenem, 300 bis 500 fach verdünntem Blutserum agglutinierte er sich deutlich bis spärlich.

Versuch 33. Patient S. S., 4 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 3. September 1906.

Sonst wie bei Versuch 32. Den von diesem Patienten isolierten Bazillus bezeichne ich mit XXXIII.

Versuch 34. Patient Y. K., 9 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 29. August 1906.
Aufnahme in das Hospital zu Nakagunu-Mura: 5. September.
Untersuchung des Kotes: 19. September.
Beschaffenheit des Kotes: blutig, schleimig.
Amöbenbefund: negativ.

Aus dem Kot isolierter Bazillus XXXIV agglutinierte sich durch den Zusatz von 300 fach verdünntem Blutserum, welches von demselben Patienten mittels Blasenpflaster entnommen wurde.

Versuch 35. Patientin K. K., Bäuerin, 50 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 9. September 1906.

Die Patientin wurde an demselben Tage in das Hospital zu Nakagunu-Mura aufgenommen. Am 19. September untersuchte ich ihren Eiter enthaltenen Kot und fand Bazillus XXXV, aber keine Amöbe. Dieser Bazillus agglutinierte sich spärlich durch den Zusatz von 500 fach verdünntem Blutserum, welches von derselben Patientin mittels Blasenpflaster entnommen wurde.

Versuch 36. Patientin T. S., Bäuerin, 37 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital zu Nakagunu Mura: 10. September 1906.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Beschaffenheit des Kotes: schleimig.

Befund der Amöben: negativ.

Der aus diesem Kot isolierte Bazillus XXXVI agglutinierte sich durch Zusatz von 300 fach verdünntem Blutserum, welches von derselben Patientin mittels Blasenpflaster gewonnen wurde.

Versuch 37. Patient K. S., Bauer, 27 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 7. September 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Nakagunu-Mura: 8. September.

Sonst wie bei Versuch 36. Den aus diesem Patienten isolierten Bazillus bezeichne ich mit XXXVII.

Versuch 38. Patient T. S., 5 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 8. September 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Nakagunu-Mura: 9. September.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Beschaffenheit des Kotes: blutig, schleimig.

Befund der Amöben: negativ.

Der aus diesem Kot isolierte Bazillus XXXVIII agglutinierte sich deutlich durch den Zusatz von 300—500 fach verdünntem Blutserum, das anderen Kranken entnommen wurde.

Versuch 39. Patient S. Y., Bauer, 37 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 16. September 1906.

Am nächsten Tage wurde der Patient in das Hospital zu Nakagunu-Mura aufgenommen. Am 19. September untersuchte ich seinen blutig-schleimigen Kot und fand keine Amöbe, sondern den Bazillus XXXIX. Der Bazillus zeigte durch den Zusatz von 300 fach verdünntem, von dem Patienten mittels Blasenpflaster gewonnenem Blutserum deutlich Agglutination.

Versuch 40. Patient S. J., 5 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit: 9. September 1906.

Aufnahme in das Hospital zu Nagakunu-Mura: 10. September.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Beschaffenheit des Kotes: blutig, schleimig.

Befund der Amöben: negativ.

Der aus dem Kot isolierte Bazillus XL agglutinierte sich ziemlich deutlich durch Zusatz von 500 fach verdünntem Blutserum, welches von anderen Kranken gewonnen wurde.

Versuch 41. Patient S. N., 12 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital der Stadt Kagoshima: 7. September 1906.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Beschaffenheit des Kotes: schleimig.

Befund der Amöben: negativ.

Der aus diesem Kot isolierte Bazillus XLI agglutinierte sich ziemlich deutlich durch Zusatz von 300fach verdünntem, von dem Patienten selbst mittels Blasenpflaster gewonnenem Blutserum.

Versuch 42. Patientin T. N., Kaufmannsfrau, 32 Jahre alt.

Ausbruch der Krankheit und Aufnahme in das Hospital der Stadt Kagoshima: 27. August 1906.

Untersuchung des Kotes: 19. September.

Beschaffenheit des Kotes: blutig, schleimig.

Befund der Amöben: negativ.

Aus dem Kot dieser Patientin isolierte sich Bazillus XLII, der durch den Zusatz von 300fach verdünntem, von derselben Patientin mittels Blasenpflaster erhaltenem Blutserum ziemlich deutliche Agglutination zeigte.

Die aus verschiedenen Dysenteriekranken isolierten Bazillen sind einander morphologisch und biologisch ganz ähnlich, gleichen sogar dem Bacillus coli communis. In gleicher Weise agglutinieren sie sich durch Blutserum, welches von verschiedenen Dysenteriekranken entnommen wurde. Die Agglutinationsprobe zeigt aber, dafs die Bazillen mit dem Bacillus coli communis und dem Bacillus dysenteriae Shiga nicht identisch sind. Die Resultate der Agglutinationsproben stelle ich in folgenden Tabellen I—VI zusammen:

Erklärung der Zeichen in den Tabellen:

0 = keine Agglutination;
S = spärliche Agglutination;
1 = ziemlich deutliche Agglutination;
2 = deutliche Agglutination.
3 = sehr deutliche Agglutination;

Tabelle I.

Agglutinationsversuche an aus Dysenteriekot isolierten Bakterien mittels Zusatz von Blutserum Dysenteriekranker. (Nach 24 Stunden.)

	Serum von Patienten																
	1			2			4			7		10			11		
	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×
Bazillus I	3	2	1	3	2	1	3	2	2	2	1	3	2	2	3	3	3
» II	2	1	S	3	2	1	3	2	1	2	S	3	2	2	2	2	2
» III	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3
» IV	3	2	2	3	3	2	3	3	2	3	3	2	1	S	3	2	1
» V	3	3	2	2	1	1	3	2	2	3	2	3	3	2	3	3	2
» VI	2	2	2	3	3	2	3	3	2	3	3	3	3	2	3	3	3
» VII	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» VIII	2	2	1	3	2	S	2	1	1	2	1	3	2	1	3	3	2
» IX	2	2	2	3	3	2	2	1	S	2	2	3	2	1	2	1	S
» XI	3	3	2	3	2	1	3	2	1	3	1	3	2	1	3	2	1
» XII	3	2	1	3	3	3	2	1	1	3	2	2	1	1	2	2	2
» XIII	3	3	3	3	3	2	3	2	2	3	2	3	2	1	2	2	1
» XIV	2	2	1	2	2	1	3	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2
» XV	3	3	2	2	1	S	3	2	2	2	1	3	2	2	2	1	1
» XVI	3	3	2	3	3	3	3	2	2	2	1	3	2	1	3	3	2
» XIX	3	2	2	3	2	1	3	2	1	2	3	2	2	2	3	2	2
» XXV	3	3	2	3	2	2	3	3	2	3	2	2	1	S	3	2	1
» XXVII	2	2	1	3	2	2	3	2	2	2	S	3	3	2	2	1	S
» XXVIII	1	S	0	3	2	1	2	1	0	2	2	2	2	1	3	2	2
» XXIX	3	2	2	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	2
» XXX	2	2	1	3	2	1	3	3	2	2	1	3	3	2	3	3	2
» XXXI	3	3	2	2	1	S	3	2	1	2	2	2	2	2	3	2	2
» XXXII	2	2	1	3	3	2	3	3	2	3	1	2	1	S	2	2	1
» XXXIII	2	2	1	3	3	2	3	3	2	2	0	3	2	1	2	1	1
» XXXIV	2	2	1	3	2	2	2	1	S	3	2	2	1	S	3	2	S
» XXXV	3	3	2	3	2	1	3	3	1	3	3	3	3	3	3	2	1
» XXXVI	3	2	1	3	2	1	3	2	2	3	1	2	1	S	3	3	2
» XXXVII	2	1	1	3	2	2	3	2	2	1	S	3	2	1	3	3	2
» XXXVIII	2	2	S	3	2	2	3	2	2	1	1	3	3	2	2	1	S
» XXXIX	2	1	S	3	2	1	3	2	1	2	1	2	1	S	2	2	1
» XL	1	S	S	2	1	S	2	1	S	2	1	1	S	0	2	1	S
» XLI	1	S	0	2	1	S	1	S	0	1	S	2	2	S	2	1	S
» XLII	2	1	0	3	2	1	3	2	2	1	S	2	1	1	3	2	1
Bac. coli com...	0	0	0	S	0	0	1	S	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» dysenter.	0	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle I.
(1. Fortsetzung.)

	Serum von Patienten																
	12			13			15			17			18			19	
	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	200 ×	300 ×
Bazillus I	3	3	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	3	2
» II	3	2	1	3	2	1	2	1	S	3	2	2	2	2	1	3	2
» III	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	2	1	2	1
» IV	2	1	1	3	2	2	3	2	2	3	2	1	3	2	1	2	1
» V	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	1	3	3	2	3	2
» VI	3	3	3	3	2	1	2	2	1	3	3	2	3	2	1	2	1
» VII	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	2
» VIII	3	3	2	2	2	1	3	2	2	2	2	1	2	2	1	3	2
» IX	3	2	1	2	2	1	2	1	1	3	3	2	3	3	3	3	3
» XI	2	2	1	3	2	1	2	1	1	3	2	1	2	2	S	2	1
» XII	3	2	2	3	2	2	3	3	S	2	2	1	2	2	1	3	2
» XIII	2	2	1	3	2	2	2	2	1	2	1	S	3	2	1	1	0
» XIV	2	1	S	2	1	1	2	2	S	3	1	S	3	2	1	1	S
» XV	2	2	S	2	2	1	3	3	3	2	1	1	2	1	S	S	0
» XVI	2	1	1	3	2	2	3	3	2	3	2	1	3	2	1	2	1
» XIX	2	1	S	2	1	0	2	S	0	2	1	1	2	1	S	2	S
» XXV	2	2	2	2	1	1	2	1	1	3	2	1	2	1	S	S	S
» XXVII	3	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	S	3	2	1	3	2
» XXVIII	3	3	1	3	1	0	2	1	S	3	2	2	3	2	1	2	1
» XXIX	2	1	1	2	2	1	3	3	2	3	S	0	2	S	0	1	S
» XXX	2	1	S	3	3	2	3	2	2	2	1	1	2	2	1	3	2
» XXXI	3	2	1	3	1	S	—	—	—	3	2	1	3	2	S	2	1
» XXXII	2	2	1	3	2	1	3	3	S	2	3	1	3	2	1	3	2
» XXXIII	2	1	S	3	2	S	3	2	2	3	3	3	3	3	2	3	2
» XXXIV	2	1	S	3	1	0	1	1	S	2	2	1	2	1	S	2	1
» XXXV	3	2	1	3	2	2	2	1	1	2	2	1	2	1	S	2	1
» XXXVI	2	2	1	3	3	1	3	2	1	2	1	1	2	S	0	2	1
» XXXVII	2	1	S	2	2	1	2	2	1	1	1	S	2	1	S	1	S
» XXXVIII	2	2	1	3	3	3	2	2	1	3	2	2	2	2	1	2	1
» XXXIX	3	2	1	3	2	0	2	1	S	2	2	1	3	2	S	2	1
» XL	2	1	S	2	1	S	3	2	S	2	1	S	3	2	1	2	1
» XLI	1	S	S	1	1	S	2	1	S	2	S	S	2	1	S	2	1
» XLII	3	2	1	1	S	0	1	S	S	3	2	1	2	2	1	2	1
Bac. coli com.	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
» dysenter.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0

Tabelle I.
(2. Fortsetzung.)

	Serum von Patienten																
	20			21			22		23			24			25		
	100×	200×	300×	100×	200×	300×	200×	300×	100×	200×	300×	100×	200×	300×	100×	200×	300×
Bazillus I	3	3	2	3	2	1	3	2	3	2	1	3	2	2	3	3	2
» II	3	2	2	3	3	2	3	2	3	2	2	3	2	1	3	2	2
» III	3	3	2	3	3	3	2	1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» IV	2	1	S	1	S	0	1	S	3	2	2	3	2	1	3	2	2
» V	3	2	2	2	1	S	2	1	3	3	3	3	3	2	3	3	1
» VI	2	1	S	3	2	2	2	1	3	2	2	3	2	2	3	3	2
» VII	3	2	1	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» VIII	3	2	1	2	1	S	2	1	3	3	1	3	2	1	3	2	2
» IX	3	2	S	3	2	2	3	2	2	1	1	3	3	S	3	2	1
» XI	2	1	1	3	2	2	2	1	3	2	2	3	3	1	3	2	1
» XII	3	2	2	2	1	1	2	1	3	3	2	2	1	1	3	2	2
» XIII	3	3	2	3	2	2	2	1	2	2	1	2	1	2	3	2	2
» XIV	3	2	1	2	2	1	3	2	2	2	1	3	2	2	3	2	1
» XV	2	1	S	3	2	1	2	1	3	3	1	2	1	S	2	1	1
» XVI	3	2	1	2	2	1	2	1	3	2	2	2	2	S	1	1	S
» XIX	2	2	S	3	2	2	2	1	2	2	1	3	2	0	1	1	S
» XXV	3	2	1	2	2	1	3	2	3	2	S	3	3	2	3	3	2
» XXVII	3	3	2	2	1	S	2	2	3	3	2	2	2	0	3	1	S
» XXVIII	2	2	1	3	3	2	3	2	2	2	2	3	2	1	3	2	1
» XXIX	2	2	1	3	3	2	1	S	3	3	2	2	1	0	3	2	S
» XXX	3	2	S	2	1	S	2	S	3	3	3	2	1	1	2	2	1
» XXXI	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	1	3	3	3	3	3	2
» XXXII	3	3	2	2	2	1	2	1	1	S	0	3	2	0	3	1	S
» XXXIII	3	3	3	2	1	S	2	1	3	2	1	3	3	1	3	2	1
» XXXIV	3	2	1	2	2	1	1	1	2	1	S	2	2	S	2	1	1
» XXXV	3	2	1	2	1	1	2	1	3	3	1	2	2	1	2	2	1
» XXXVI	2	2	1	3	2	2	1	S	1	S	S	2	2	S	3	2	0
» XXXVII	2	1	S	2	1	1	2	1	3	2	2	3	2	2	3	3	1
» XXXVIII	3	3	2	2	2	1	2	1	3	2	1	2	2	1	3	2	1
» XXXIX	2	1	S	3	2	1	2	S	3	2	2	2	2	1	3	2	S
» XL	2	2	1	2	1	S	2	1	2	1	S	3	2	2	3	2	S
» XLI	2	1	1	1	S	S	S	0	1	S	S	3	2	1	3	2	2
» XLII	3	2	1	3	2	1	2	1	2	2	1	2	1	S	1	1	S
Bac. coli com.	0	0	0	0	0	0	0	0	1	S	0	S	S	0	S	0	0
» dysenter.	0	0	0	0	0	0	0	0	1	S	0	0	0	0	S	0	0

Tabelle I.
(3. Fortsetzung.)

	Serum von Patienten																
	26			28			31		35			36			37		
	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×
Bazillus I	2	2	1	3	3	2	3	3	3	3	2	3	2	1	2	2	1
» II	2	1	1	3	2	1	2	1	3	2	1	2	2	1	1	S	0
» III	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2
» IV	1	1	S	3	2	1	2	1	3	3	1	3	2	2	2	2	1
» V	3	2	2	3	2	1	3	2	3	3	2	3	3	3	2	1	1
» VI	2	1	S	3	2	1	1	S	2	1	S	2	2	1	3	2	1
» VII	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» VIII	2	1	1	3	2	1	2	1	3	2	S	2	2	1	2	2	1
» IX	3	2	1	3	3	2	2	1	3	2	1	3	2	1	2	1	1
» XI	3	3	2	3	3	3	2	1	3	2	1	3	3	2	2	1	1
» XII	2	1	1	2	2	1	2	1	3	3	1	3	3	3	2	1	1
» XIII	2	1	0	2	2	1	1	S	3	2	2	3	3	1	2	2	1
» XIV	2	1	1	2	2	1	3	2	3	2	2	2	2	1	3	2	2
» XV	3	2	1	3	3	2	3	3	2	2	2	3	2	1	2	2	1
» XVI	3	2	1	2	1	0	2	1	3	2	2	2	2	2	3	3	2
» XIX	3	3	S	2	2	1	3	2	3	2	1	3	2	1	2	1	1
» XXV	2	1	S	3	2	2	3	2	2	2	S	1	1	1	3	2	2
» XXVII	3	2	S	2	1	S	1	0	2	1	0	3	2	1	3	3	2
» XXVIII	2	1	1	3	2	S	2	1	3	2	S	3	2	1	2	1	1
» XXIX	2	1	S	3	3	1	2	1	3	2	1	3	3	2	3	3	2
» XXX	3	2	S	2	1	S	2	1	3	2	0	3	3	3	2	1	1
» XXXI	2	1	S	2	1	2	2	1	2	1	S	3	3	3	2	1	S
» XXXII	1	1	S	2	2	1	1	S	2	1	0	3	2	2	3	2	2
» XXXIII	3	2	S	3	3	2	2	1	2	1	1	3	2	1	2	2	2
» XXXIV	1	S	0	1	1	S	1	S	2	S	S	2	1	S	3	2	1
» XXXV	3	2	1	3	2	1	1	S	3	2	S	3	2	1	3	3	2
» XXXVI	3	2	S	2	2	2	3	3	3	2	1	2	2	1	3	3	3
» XXXVII	3	3	2	2	1	1	2	1	3	3	2	3	3	3	2	1	S
» XXXVIII	2	2	1	3	3	2	2	1	3	3	2	3	3	2	3	2	2
» XXXIX	2	1	1	1	1	S	1	S	3	2	1	3	2	S	2	1	1
» XL	1	S	S	2	1	S	S	0	1	0	0	2	1	1	3	2	1
» XLI	3	2	S	2	1	S	1	S	2	1	1	3	2	1	2	1	S
» XLII	3	2	S	3	3	2	2	1	3	2	1	2	2	1	2	2	1
Bac. coli com	1	S	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	S	0	0
» dysenter.	S	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0

Tabelle I.
(4. Fortsetzung.)

	Serum von Patienten								Mit Dysent.-Baz. immunisiertes Kaninchenblutserum			Mit Bac. coli immunisiertes Kaninchen blutserum		
	39			41		45								
	100 ×	200 ×	300 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×	100 ×	200 ×	300 ×
Bazillus I	2	2	2	2	2	2	1	S	S	S	0	S	S	0
› II	2	1	1	2	1	2	2	1	0	0	0	0	0	0
› III	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
› IV	2	2	1	2	1	3	3	2	0	0	0	0	0	0
› V	3	2	2	1	S	2	1	S	0	0	0	0	0	0
› VI	3	3	2	2	S	3	2	1	0	0	0	0	0	0
› VII	3	3	3	3	3	3	3	3	S	S	0	S	S	0
› VIII	3	2	2	2	2	3	2	2	0	0	0	0	0	0
› IX	3	2	2	2	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0
› XI	3	3	2	2	1	3	2	1	0	0	0	0	0	0
› XII	2	2	1	1	0	2	2	1	0	0	0	0	0	0
› XIII	3	2	0	1	S	1	1	S	0	0	0	0	0	0
› XIV	3	2	1	2	1	3	2	1	1	S	S	S	S	S
› XV	2	1	S	1	S	1	1	S	1	S	S	0	0	0
› XVI	3	3	2	2	1	2	1	1	0	0	0	1	1	S
› XIX	2	2	1	2	0	3	3	3	S	0	0	0	0	0
› XXV	2	2	S	2	2	1	1	S	S	0	0	0	0	0
› XXVII	3	2	1	2	1	2	2	1	S	0	0	0	0	0
› XXVIII	2	2	1	2	1	3	2	1	0	0	0	0	0	0
› XXIX	2	1	S	1	S	3	1	1	0	0	0	1	S	S
› XXX	3	2	1	1	S	2	2	1	0	0	0	0	0	0
› XXXI	3	2	2	2	S	3	1	S	0	0	0	0	0	0
› XXXII	3	3	2	3	1	2	2	1	S	0	0	0	0	0
› XXXIII	2	2	1	1	S	1	1	S	S	S	0	S	S	0
› XXXIV	3	2	1	1	S	2	0	0	S	0	0	0	0	0
› XXXV	2	1	1	2	1	3	2	1	S	S	0	0	0	0
› XXXVI	2	1	S	2	1	2	2	1	0	0	0	S	S	0
› XXXVII	3	2	1	2	1	3	2	2	0	0	0	0	0	0
› XXXVIII	2	2	1	1	0	2	1	0	S	0	0	S	0	0
› XXXIX	3	2	2	2	1	3	1	S	S	S	0	0	0	0
› XL	2	1	S	2	1	1	1	S	S	0	0	S	0	0
› XLI	2	1	1	1	S	2	2	1	1	1	0	1	S	0
› XLII	3	2	1	1	S	3	2	1	0	0	0	0	0	0
Bac. coli com.	S	S	0	0	0	S	0	0	1	1	S	3	3	3
› dysenter.	S	0	0	0	0	S	0	0	3	3	3	1	1	S

Tabelle II.

Agglutinationsversuche mittels Zusatz von Blutserum, das dem Patienten 13 entnommen wurde.

	100fache Verdünnung nach Stunden					200fache Verdünnung nach Stunden					300fache Verdünnung nach Stunden					500fache Verdünnung nach Stunden				
	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24
Baz. I	1	2	2	2	3	0	S	1	2	3	0	S	S	2	3	0	S	S	1	2
» II	0	1	2	2	3	0	S	1	1	2	0	0	S	S	1	0	0	S	S	1
» III	1	3	3	3	3	S	2	3	3	3	0	1	2	2	3	0	1	1	2	3
» IV	S	1	1	2	3	1	1	2	2	3	1	1	2	2	3	S	S	1	1	2
» V	S	2	3	3	3	S	S	1	2	3	0	S	1	2	3	S	1	1	2	3
» VI	1	2	2	2	3	0	1	2	2	2	0	S	S	1	1	0	S	S	1	1
» VII	1	3	3	3	3	1	1	2	3	3	1	1	1	2	3	S	1	1	2	3
» VIII	1	1	1	2	2	S	S	1	1	2	0	S	S	S	1	0	0	S	S	1
» IX	S	1	2	2	2	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	S	S	S
» XI	S	1	2	2	3	S	S	S	1	2	0	S	S	S	1	0	0	S	S	S
» XII	1	2	2	3	3	1	1	1	2	2	S	1	1	1	2	0	S	S	1	1
» XIII	1	2	2	3	3	S	1	1	2	2	S	S	1	1	2	0	S	S	1	2
» XIV	1	1	1	2	2	S	S	1	1	1	0	S	S	S	1	0	S	S	S	1
» XV	S	1	1	2	2	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	S	S	1
» XVI	1	2	2	2	3	S	1	2	2	2	S	S	1	1	2	S	1	1	1	2
» XIX	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXV	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	S	S	1	1	0	0	0	0	0
» XXVII	S	S	S	1	2	0	S	S	1	1	0	S	S	S	1	0	0	0	0	S
» XXVIII	1	2	2	3	3	S	S	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXIX	S	2	2	2	2	S	1	2	2	2	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S
» XXX	S	1	1	2	3	S	S	1	1	2	S	S	1	1	2	0	S	S	1	2
» XXXI	S	1	1	2	3	S	S	1	1	1	0	S	S	S	S	0	0	0	S	S
» XXXII	1	2	2	3	3	S	1	2	2	2	S	S	S	1	1	0	0	0	0	0
» XXXIII	S	1	2	3	3	S	S	1	1	2	0	S	S	S	S	0	S	S	S	S
» XXXIV	S	1	1	2	3	S	S	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXXV	1	1	2	3	3	S	1	1	2	2	0	S	1	1	2	0	S	1	1	2
» XXXVI	1	2	3	3	3	1	2	3	3	3	S	S	1	1	1	0	0	0	0	0
» XXXVII	S	1	2	2	2	S	1	2	2	2	S	S	1	1	1	0	S	S	1	1
» XXXVIII	1	2	2	3	3	S	1	2	3	3	S	1	2	2	3	S	S	1	1	2
» XXXIX	S	1	1	2	3	S	S	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XL	0	S	S	1	2	0	0	S	1	1	0	0	S	S	S	0	0	0	S	S
» XLI	0	S	S	1	1	0	0	S	S	1	0	0	S	S	S	0	0	0	S	S
» XLII	0	S	S	1	1	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bac. coli com.	0	0	S	S	S	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» dysenteriae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle III.

Agglutinationsversuche mittels Zusatz von Blutserum, das dem Patienten 15 entnommen wurde.

	100fache Verdünnung nach Stunden					200fache Verdünnung nach Stunden					300fache Verdünnung nach Stunden					500fache Verdünnung nach Stunden				
	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24
Bazillus I	S	1	2	2	3	S	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	S	S	1	1
» II	S	S	1	2	2	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
» III	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	S	1	1	2	3	1	1	1	2	2
» IV	S	1	2	2	3	S	S	1	1	2	0	S	S	1	2	0	S	S	1	1
» V	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	S	1	2	2	2	S	1	1	1	2
» VI	0	S	S	1	2	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
» VII	1	2	3	3	3	S	1	2	3	3	S	1	1	2	2	0	S	1	1	2
» VIII	1	2	3	3	3	1	1	2	2	2	S	1	1	2	2	S	S	1	1	2
» IX	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0
» XI	0	S	S	1	2	0	S	S	S	1	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S
» XII	S	1	1	2	3	S	1	1	2	3	0	S	S	S	S	0	0	0	0	0
» XIII	S	1	1	1	2	0	S	1	1	2	0	S	S	S	1	0	S	S	S	1
» XIV	S	S	1	1	2	0	S	1	1	2	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S
» XV	S	1	2	3	3	S	1	2	2	3	S	1	2	2	3	S	S	S	1	2
» XVI	1	2	2	3	3	S	S	1	2	3	S	S	1	1	2	0	S	1	1	2
» XIX	S	1	2	2	2	0	S	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXV	S	1	1	2	2	0	S	S	1	1	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S
» XXVII	0	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0
» XXVIII	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
» XXIX	S	1	2	3	3	S	1	2	2	3	S	1	2	2	2	0	0	0	S	S
» XXX	S	S	1	1	3	S	S	1	1	2	S	S	1	1	2	0	S	S	1	2
» XXXI	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
» XXXII	1	2	2	3	3	S	S	1	2	3	0	S	S	S	S	0	0	0	0	0
» XXXIII	S	1	2	2	3	S	S	1	2	2	0	S	1	2	2	0	0	0	0	0
» XXXIV	0	0	0	S	1	0	0	0	S	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» XXXV	S	S	S	1	2	S	S	S	1	1	0	S	S	1	1	0	S	S	S	1
» XXXVI	S	S	1	2	3	0	S	1	2	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0
» XXXVII	S	1	2	2	2	S	1	1	1	2	S	S	S	1	1	0	0	0	S	S
» XXXVIII	S	1	2	2	2	S	1	1	1	2	S	S	1	1	1	0	S	S	S	1
» XXXIX	S	1	2	2	2	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
» XL	S	1	1	2	3	S	1	1	2	2	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0
» XLI	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0
» XLII	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
Bac. coli com.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» dysenteriae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle IV.

Agglutinationsversuche mittels Zusatz von Blutserum, das der Patientin 23 entnommen wurde.

	100 fache Verdünnung nach Stunden					200 fache Verdünnung nach Stunden					300 fache Verdünnung nach Stunden					500 fache Verdünnung nach Stunden				
	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24
Bazillus I	S	1	2	2	3	0	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	S	S	1	1
» II	1	2	2	3	3	1	2	2	2	2	0	S	1	2	2	0	S	S	1	1
» III	1	2	3	3	3	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3	S	S	1	2	3
» IV	S	1	2	2	3	S	S	1	2	2	S	S	1	2	2	0	S	S	1	2
» V	2	2	3	3	3	2	2	3	3	3	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3
» VI	S	1	2	2	3	0	S	1	1	2	0	S	1	1	2	0	0	S	S	1
» VII	S	1	2	2	3	0	S	1	2	3	0	S	1	2	3	0	S	1	2	3
» VIII	S	1	1	2	3	0	S	1	2	3	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S
» IX	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0
» XI	0	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1
» XII	1	2	2	3	3	1	1	2	2	3	S	1	1	1	2	0	S	S	1	2
» XIII	0	S	S	1	2	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0
» XIV	1	1	2	2	2	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	0	0	0
» XV	S	1	2	2	3	0	S	1	2	3	0	0	S	1	1	0	0	0	0	0
» XVI	S	1	2	3	3	S	1	1	2	2	0	S	1	1	2	0	S	S	1	2
» XIX	0	S	1	1	2	0	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	0	0	0
» XXV	S	1	2	3	3	0	S	1	2	2	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0
» XXVII	1	2	2	3	3	S	1	1	2	3	0	S	1	2	2	0	0	0	S	S
» XXVIII	S	1	2	2	3	S	1	1	2	2	0	S	S	1	2	0	0	0	0	0
» XXIX	1	2	2	3	3	S	1	1	2	3	0	S	1	1	2	0	S	1	1	2
» XXX	S	1	2	3	3	0	S	1	2	3	0	0	S	1	3	0	0	S	S	2
» XXXI	0	S	1	2	3	0	S	1	1	2	0	0	S	1	1	0	0	0	0	0
» XXXII	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXXIII	S	S	1	2	3	S	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S
» XXXIV	0	S	S	1	2	0	0	S	1	1	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S
» XXXV	S	1	2	3	3	S	1	2	3	3	0	S	S	1	1	0	S	S	1	1
» XXXVI	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
» XXXVII	S	1	1	2	3	0	S	S	1	2	0	S	S	1	2	0	S	S	S	1
» XXXVIII	S	1	1	2	3	0	S	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	S	1	1
» XXXIX	S	1	2	2	3	0	S	1	2	2	0	0	S	2	2	0	0	S	S	1
» XL	0	S	1	2	2	0	S	S	1	1	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0
» XLI	0	S	S	1	1	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» XLII	0	S	S	1	2	0	S	S	1	2	0	S	S	S	1	0	0	0	0	0
Bac. coli com.	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» dysenteriae	0	0	0	S	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle V.

Agglutinationsversuche mittels Zusatz von Blutserum, das dem Patienten 25 entnommen wurde.

	100 fache Verdünnung nach Stunden					200 fache Verdünnung nach Stunden					300 fache Verdünnung nach Stunden					500 fache Verdünnung nach Stunden				
	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24
Bazillus I	S	1	2	3	3	S	1	2	2	3	S	1	2	2	2	0	0	S	1	1
» II	2	2	3	3	3	1	2	2	2	2	S	1	2	2	2	0	S	1	2	2
» III	1	2	2	3	3	S	1	2	3	3	S	S	1	2	3	0	S	1	2	3
» IV	2	3	3	3	3	S	1	1	2	2	0	S	1	2	2	0	S	S	1	1
» V	1	2	2	3	3	S	1	2	3	3	0	S	1	1	1	0	0	0	S	S
» VI	2	2	3	3	3	S	2	2	3	3	S	S	1	1	2	0	S	S	1	2
» VII	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	1	2	2	3	3	S	1	2	3	3
» VIII	S	1	2	3	3	S	1	1	1	2	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1
» IX	S	1	2	3	3	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
» XI	S	1	2	2	3	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S
» XII	0	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	S	1	2	0	0	S	S	1
» XIII	S	1	1	2	3	S	S	1	1	2	0	S	S	1	2	0	0	0	S	S
» XIV	0	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
» XV	0	S	1	2	2	0	S	S	1	1	0	0	S	1	1	0	0	0	S	1
» XVI	0	0	S	S	1	0	0	0	S	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» XIX	0	0	0	S	1	0	0	0	S	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» XXV	0	S	1	2	3	0	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	0	S	1
» XXVII	0	S	1	2	3	0	0	0	S	1	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» XXVIII	S	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
» XXIX	S	1	2	2	3	S	S	1	1	2	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0
» XXX	S	1	2	2	2	0	S	1	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
» XXXI	S	1	2	2	3	S	1	2	2	3	0	S	S	1	2	0	0	0	S	S
» XXXII	0	S	1	2	3	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	S
» XXXIII	0	S	S	2	3	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
» XXXIV	0	S	S	1	2	0	S	S	1	1	0	0	S	1	1	0	0	0	S	S
» XXXV	0	S	S	1	2	0	S	S	1	2	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S
» XXXVI	1	1	2	2	3	0	S	S	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXXVII	S	S	1	2	3	S	S	1	2	3	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S
» XXXVIII	S	S	1	2	3	0	S	S	2	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
» XXXIX	0	S	1	2	3	0	0	S	1	2	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0
» XL	S	1	2	3	3	0	S	1	1	2	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0
» XLI	0	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
» XLII	0	0	S	S	1	0	0	0	S	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
Bac. coli com.	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» dysenteriae	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle VI.

Agglutinationsversuche mittels Zusatz von Blutserum, das dem Patienten 35 entnommen wurde.

	100fache Verdünnung nach Stunden					200fache Verdünnung nach Stunden					300fache Verdünnung nach Stunden					500fache Verdünnung nach Stunden				
	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24	1	3	5	8	24
Bazillus I	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1
» II	S	1	2	2	3	S	S	1	1	2	0	S	S	S	1	0	0	0	0	0
» III	1	2	3	3	3	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3	S	S	S	1	2
» IV	S	2	2	3	3	S	S	1	2	3	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S
» V	1	2	3	3	3	S	2	2	3	3	0	S	2	2	2	0	S	S	S	2
» VI	S	S	1	2	2	S	S	1	1	1	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S
» VII	2	3	3	3	3	1	3	3	3	3	1	2	2	3	3	0	S	2	2	3
» VIII	S	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
» IX	S	1	2	2	3	0	S	1	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S
» XI	1	2	2	3	3	S	1	1	2	2	S	S	S	1	1	0	0	0	S	S
» XII	0	S	1	2	3	0	0	S	1	3	0	0	S	1	1	0	0	0	S	S
» XIII	S	S	1	2	3	S	S	1	2	3	0	S	S	2	2	0	S	S	S	1
» XIV	0	S	2	2	3	0	S	S	2	2	0	0	S	1	2	0	0	0	S	S
» XV	S	S	1	2	2	0	S	S	1	2	0	0	S	S	2	0	0	0	0	0
» XVI	S	1	2	2	3	S	1	1	2	2	S	1	1	2	2	0	S	S	1	2
» XIX	S	S	1	2	3	0	S	1	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0
» XXV	S	S	1	2	2	S	S	1	1	2	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
XXVII	0	S	S	2	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
‹ XXVIII	0	S	1	2	3	0	0	S	S	2	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» XXIX	S	1	1	2	2	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S
» XXX	0	S	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXXI	S	1	1	1	2	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0
» XXXII	S	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XXXIII	S	S	1	2	2	0	S	S	1	1	0	S	S	1	1	0	0	0	0	S
» XXXIV	S	S	1	1	2	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0
» XXXV	S	1	2	2	3	0	S	S	1	2	0	0	S	S	S	0	0	0	S	S
» XXXVI	S	S	1	2	3	S	S	S	1	2	0	0	S	S	1	0	0	S	S	S
» XXXVII	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3	S	1	1	2	2	0	S	S	1	2
» XXXVIII	1	1	2	2	3	S	1	1	2	3	0	S	S	1	2	0	0	0	S	S
» XXXIX	S	S	2	2	3	S	S	1	2	2	0	S	S	1	1	0	0	0	0	0
» XL	S	S	S	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» XLI	S	S	1	2	2	0	S	S	1	1	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S
» XLII	S	1	2	2	3	0	S	1	1	2	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S
Bac. coli com.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» dysenteriae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Über den morphologischen und biologischen Befund des von Dysenteriekranken isolierten Bazillus habe ich folgende Mitteilungen zu machen.

Morphologie.

Der Bazillus ist dem Bacillus coli communis sehr ähnlich, sein Querschnitt betrug ca. 0,4—0,6 μ und seine Länge 2—5 mal so viel als seine Breite. Die Bazillen sind manchmal einzeln vorhanden, manchmal sind zwei oder drei Exemplare miteinander verbunden, selten bilden sie ziemlich lange Fäden. Beide Enden des Bazillus sind abgerundet. Die Bazillen haben lebhafte Eigenbewegung und bilden keine Sporen. Nach Gram färben sie sich nicht.

Biologie.

Die Bazillen sind fakultativ aerob; sie entwickeln sich in Zimmertemperatur und Bruttemperatur, besser aber bei 37° C.

Auf Gelatineplatten: Nach 2 × 24 Stunden bei 18° C entwickeln sich auf der Oberfläche 0,5—1,0 mm grofse weifse Kolonien, welche bei schwacher Vergröfserung rundlich und fein granuliert sind. Die tiefliegenden Kolonien sind makroskopisch punktförmig und mikroskopisch rund und homogen. Nach drei Tagen sind die aufliegenden Kolonien 2—3 mm grofs, rundlich, dünn, milchweifs oder grauweifs, etwas erhaben wie Milchtröpfchen, feucht glänzend und irrisierend; bei schwacher Vergröfserung in der Mitte dunkelbraun, nach der Peripherie durchsichtig, bräunlichgelb und gekörnt. Der Rand der Kolonie ist eingebuchtet. Die tiefliegenden Kolonien sind klein, gelblichweifs; bei schwacher Vergröfserung scheinbar gelb und fein gekörnt. Später nehmen die Kolonien an Gröfse zu; die Form und der Bau der Kolonien sind aber immer gleich; die Gelatine verflüssigt sich nicht.

Gelatinestichkultur: Nach zwei Tagen bei Zimmertemperatur dünne, weifse, graugrünlich irrisierende, rundliche,

zackige, etwas erhabene Auflagerung mit schwachgekörntem, weifslichgrauem, fadenförmigem Stichkanal. Manchmal wird der Nährboden durch Gasblasen zerrissen.

Auf Agarplatten: Nach 24 Stunden bei 37° C 5—7 mm grofse, milchweifse, runde oder ovale, feuchtglänzende, in der Mitte nabelartig erhabene, aufliegende Kolonien, welche bei schwacher Vergröfserung im Zentrum dunkelbraun und nach der Peripherie hin allmählich durchsichtiger und blasser werden und granuliert sind. Die tiefliegenden Kolonien sind rundlich oder oval und klein. Nach drei Tagen werden die aufliegenden Kolonien 15—40 mm grofs. Bei Zimmertemperatur entwickeln sie sich langsam wie auf Gelatineplatten.

Agarstrichkultur: Grauweifser, irrisierender, feuchtglänzender Belag. Das Kondensationswasser wird getrübt, zeigt spärlichen, grauweifsen Bodensatz und bildet keine Kahmhaut. In älteren Kulturen bilden sich manchmal nadelähnliche Kristalle.

In 2% Traubenzucker-Agarstichkulturen: Grauweifse, feuchtglänzende Auflagerung mit weifslichgrauem, fadenförmigem Stichkanal und zahlreichen Gasblasen.

Auf Kartoffelstrichkultur: Wenig dicke, sichtbare, schleimige, flache, schmutzig gelblichweifse, später graulichbraun werdende Auflagerung.

Bouillon wird nach 24 Stunden bei 37° C deutlich und diffus getrübt, und nach 3—4 Tagen bilden sich auf der Flüssigkeit manchmal kahmhautähnliche dünne Häutchen, oder an der Reagenzglaswand bildet sich rundherum eine grauweifse Kahmhaut.

Milch wird nach 2—3 Tagen bei 37° C fest koaguliert, später verflüssigt sie sich aber wieder.

Chemische Leistung: In einer 2—3 Tage alten Peptonwasserkultur bildet sich kein Indol und nach über 10 Tagen wenig Indol. Schwefelwasserstoff ist nicht nachweisbar. Gasbildung ist deutlich nachweisbar; manchmal bildet sich in 12 cm 2%iger Maltosebouillon nach 5 Tagen bei 37° C ca. 5 ccm Gas. Die Gasbildung ist überhaupt viel üppiger als bei dem Bacillus

coli communis. Ich habe untersucht, wieviel Gas die aus dem Kot Dysenteriekranker isolierten Bakterien und der Bacillus coli communis in 12 ccm Bouillon, der verschiedene Zuckerarten zugesetzt waren, produzierten. Die folgende Tabelle (VII) zeigt das Resultat.

Tabelle VII.

Gasmengen bei Bruttemperatur.

	nach Tagen	in 2% Saccharose-bouillon	in 5% Milch-zucker-bouillon	in 2% Maltose-bouillon	in 2% Trauben-zucker-bouillon	in 1% Dextrin-bouillon	in 2% Mannit-bouillon
Bazillus III.	1	2,8 ccm	0,8 ccm	1,0 ccm	1,4 ccm	1,0 ccm	2,7 ccm
	2	3,6 »	1,5 »	1,3 »	2,2 »	1,3 »	3,6 »
	3	3,8 »	1,8 »	1,8 »	2,5 »	1,5 »	3,8 »
	4	3,9 »	1,9 »	2,0 »	3,0 »	1,6 »	3,9 »
	5	4,1 »	2,0 »	2,2 »	3,0 »	1,8 »	4,0 »
	6	4,2 »	2,1 »	2,3 »	3,3 »	2,4 »	4,0 »
	7	4,3 »	2,1 »	2,5 »	3,5 »	2,6 »	4,1 »
	8	4,3 »	2,1 »	2,6 »	3,1 »	3,1 »	4,0 »
	9	4,3 »	2,1 »	2,6 »	3,0 »	3,1 »	4,0 »
Bazillus VII.	1	2,5 ccm	1,7 ccm	3,2 ccm	1,7 ccm	1,0 ccm	2,9 ccm
	2	3,3 »	1,9 »	3,5 »	2,2 »	1,2 »	3,7 »
	3	3,5 »	2,1 »	3,7 »	2,3 »	1,4 »	4,2 »
	4	3,6 »	2,2 »	4,4 »	2,3 »	1,6 »	4,4 »
	5	3,7 »	2,3 »	5,1 »	2,3 »	2,0 »	4,5 »
	6	3,9 »	2,3 »	5,4 »	2,3 »	2,5 »	4,0 »
	7	3,7 »	2,2 »	5,5 »	2,3 »	2,7 »	4,0 »
	8	3,6 »	2,1 »	5,1 »	2,1 »	3,2 »	3,9 »
	9	3,3 »	2,1 »	5,0 »	2,0 »	3,4 »	3,9 »
Bacillus coli com.	1	1,8 ccm	1,0 ccm	0,9 ccm	1,3 ccm	0,9 ccm	2,0 ccm
	2	2,1 »	1,6 »	1,2 »	1,9 »	1,1 »	2,9 »
	3	2,2 »	1,7 »	1,3 »	2,1 »	1,1 »	3,2 »
	4	2,2 »	1,8 »	1,5 »	2,2 »	1,2 »	3,3 »
	5	2,2 »	1,9 »	1,6 »	2,3 »	1,3 »	3,4 »
	6	2,3 »	2,0 »	1,7 »	2,3 »	1,4 »	3,6 »
	7	2,3 »	2,2 »	1,7 »	2,3 »	1,6 »	3,6 »
	8	2,1 »	2,3 »	1,6 »	2,1 »	1,8 »	3,6 »
	9	2,1 »	2,4 »	1,6 »	2,0 »	1,8 »	3,5 »

Widerstandsfähigkeit.

a) Gegen Austrocknen: Die Bazillen vertragen das Aufbewahren in trockenem Zustande anscheinend längere Zeit; meine Versuche in dieser Beziehung erstreckten sich indessen nur auf den Zeitraum von 1 Woche, nach deren Ablauf die Bazillen noch lebten.

b) Gegen Licht: Direktes Sonnenlicht wirkt schädlich, der Bazillus geht innerhalb 30 Minuten zugrunde.

c) Gegen Chemikalien:

Die Bazillen sterben

in 5	%	Karbolsäurewasser	sofort
» 1	»	»	nach 30 Minuten
» 0,5	»	»	» ca. 7 Stunden
» 0,1	»	»	» » 18 »
» 0,05	»	»	» » 24 »
» 0,5	»	Sublimatwasser	sofort
» 0,1	»	»	nach ca. 2 Minuten
» 0,05	»	»	» » 5 »
» 5	»	Lysolwasser	sofort
» 1	»	»	»
» 0,5	»	»	nach 5 Minuten
» 0,1	»	»	» 2 Stunden
» 0,05	»	»	» 7 »
» 5	»	Schwefelsäurewasser	sofort
» 1	»	»	nach 2 Minuten
» 0,5	»	»	» 45 »
» 0,1	»	»	» 1 1/2 Stunden
» 0,05	»	»	» 6 »
» 5	»	Kalilaugelösung	» 1 Stunde
» 1	»	»	» über 24 Stunden.

In 0,5 proz. Kalilaugelösung waren die Bazillen nach 24 Stunden noch lebend.

Tierversuche.

Kaninchen 1. Körpergewicht 2560 g. Injiziert 1 ccm von bei 37° C 24 Stunden lang kultivierter Bouillon in die Bauchhöhle. Das Tier starb nach 13 Stunden. Sektion erfolgte sofort: Darm war gerötet und mit Gas gefüllt. Aufserdem fand ich Pericarditis, Perinephritis, Nephritis hämorrhagica, Hyperämie der Leber und der Magendarmschleimhäute, Milzvergröfserung. Peritonäum war getrübt, und es waren viele kleine Blutungen nachweisbar. In verschiedenen Organen fand ich denselben Bazillus.

Kaninchen 2. Körpergewicht 2550 g. Injiziert 0,5 ccm von derselben Bouillonkultur in die Bauchhöhle. Das Tier starb nach 18 Stunden. Befund der Sektion wie bei Kaninchen 1. Bakteriologischer Befund positiv.

Kaninchen 3. Körpergewicht 2550 g. Injiziert in die Bauchhöhle 0,3 ccm von derselben Bouillonkultur. Das Tier war ziemlich schwer krank, ist aber wieder gesund geworden.

Kaninchen 4 und 5. Körpergewicht 2540 g. Injiziert in die Bauchhöhle 0,1 und 0,05 ccm von derselben Bouillonkultur. Die Tiere waren krank, wurden aber wieder munter.

Kaninchen 6. Körpergewicht 2550 g. Subkutane Injektion von 1 ccm derselben Bouillonkultur. Nach 14 Stunden starb das Tier. Sektionsbefund war ähnlich wie bei Kaninchen 1. In verschiedenen inneren Organen fand ich denselben Bazillus.

Kaninchen 7. Körpergewicht 2550 g. Subkutane Injektion von 0,5 ccm derselben Bouillonkultur. Nach 24 Stunden starb das Tier. Sektion erfolgte sofort: Darm mit Gas gefüllt; Peritonäum getrübt und hyperämisch, Hyperämie der Magendarmschleimhaut und Leber, Milzvergröfserung, Nephritis hämorrhagica, Perinephritis, Pericarditis, Pneumonie, hämorrhagische Pleuritis. Bazillen sind in verschiedenen inneren Organen nachweisbar.

Kaninchen 8—10. Körpergewicht 2450—2350 g. Subkutane Injektion von 0,05—0,1 ccm derselben Bouillonkultur. Die Tiere wurden leicht bis schwer krank, sind aber wieder gesund geworden.

Kaninchen 11 und 12. Körpergewicht 3150 und 2650 g. Injektion in die Vene des Ohres; injiziert wurden 0,5 ccm der bisher verwendeten Bouillonkultur, nachdem die Bakterien durch Erhitzen der Kultur während 30 Minuten im Wasserbad bei 60° C abgetötet waren. Ein Tier starb nach 3 Stunden unter häufigen Krampfanfällen. Das andere Tier starb nach 18 Stunden. Die Sektionsbefunde waren wie bei Kanichen 1. Der bakteriologische Befund in verschiedenen inneren Organen war negativ.

Kaninchen 13 und 14. Körpergewicht 2460—2500 g. Die Bakterien wurden unter das Futter gemischt gegeben; krankhafte Erscheinungen sind hierdurch nicht hervorgerufen worden.

Kaninchen 15. Körpergewicht 2570 g. Der Magensaft des Tieres wurde mit dünnem Sodawasser neutralisiert; hiernach wurden 10 ccm einer Bouillonkultur, die bei 37° C 24 Stunden lang kultiviert worden war, in den Magen durch eine Hohlbougie eingegossen. Das Tier blieb gesund.

14 Meerschweinchen (Körpergewicht 200—270 g). Injektion subkutan oder in die Bauchhöhle; die injizierten Mengen betrugen 0,5, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 ccm einer bei 37° C 24 Stunden lang kultivierten Bouillon. Die Tiere, welchen über 0,05 ccm injiziert wurde, starben innerhalb 24 Stunden Das Tier, welchem 0,01 ccm in die Bauchhöhle eingespritzt wurde, starb nach ca. 40 Stunden, während das Tier, welches subkutan dieselbe Dosis bekam, gesund blieb. Die Tiere, welchen 0,005 ccm in die Bauchhöhle oder subkutan injiziert wurden, blieben immer gesund. Die Sektionsbefunde der gestorbenen Meerschweinchen waren den bei Kaninchen festgestellten ähnlich.

2 Meerschweinchen habe ich mit Bakterien vermischte Nahrung gegeben; ich bemerkte aber keine nachteiligen Erscheinungen.

Weifse Mäuse und Sperlinge, welchen ich über 0,01 ccm einer bei 37° C 24 Stunden lang kultivierten Bouillon in die Bauchhöhle oder subkutan (bei Sperling: Muskulatur) injiziert hatte, starben nach 18—36 Stunden; ich fand Peritonitis, Pericarditis, Milzvergröfserung. Der bakteriologische Befund war positiv.

Katzen und Tauben, welchen ich 0,3—1,0 ccm derselben Bouillonkultur injizierte, blieben gesund.

Agglutinationsversuche.

Wir haben schon aus den oben beschriebenen Agglutinationsversuchen ersehen, dafs alle aus Dysenteriekot isolierten Bazillen nicht nur bei Zusatz von Blutserum des betreffenden Patienten, sondern bei Zusatz von Blutserum Dysenteriekranker überhaupt agglutinieren, dafs alle isolierten Bazillen einander identisch, aber von dem Bacillus coli communis und dem Bacillus dysenteriae Shiga verschieden sind und demgemäfs eine besondere Art darstellen.

Ich habe mit abgetöteten Kulturen des Bazillus III und VII die Kaninchen immunisiert, mit deren Blutserum Agglutinationsversuche angestellt und gefunden, dafs alle isolierten Bazillen

auf 1000—10000fach verdünntes Immunserum mehr oder weniger stark sich agglutinieren.

Das Resultat des Versuches stelle ich in den folgenden zwei Tabellen VIII und IX (S. 134—137) zusammen.

Meine Versuche ergaben folgendes Resultat:

1. Die Dysenterie, welche im vorigen Jahre in Satsuma epidemisch auftrat, wurde weder durch die Amöba coli noch durch den Bacillus dysenteriae Shiga, sondern durch den oben beschriebenen, dem Bacillus coli communis ähnlichen Bazillus verursacht, weil dieser Bazillus in jedem untersuchten Dysenteriekot gleichsam in Reinkultur vorhanden war und mit ziemlich stark verdünntem Blutserum aller Dysenteriekranken sich agglutinierte.

2. Der von mir aus Dysenteriekranken isolierte Bazillus ist mit dem Bacillus coli communis verwandt; beide Bazillen agglutinieren sich nur beim Zusatz ihres spezifischen Immunserums; hierdurch kann man beide voneinander unterscheiden.

3. Die in gemäſsigten Gegenden epidemisch vorkommende Dysenterie wird nicht nur durch den Bacillus dysenteriae Shiga erregt, sondern die Ursachen der Dysenterie sind zahlreich, ähnlich wie die Pneumonie durch verschiedene Bakterien verursacht wird.

4. Der Name der Krankheit »Dysenterie« ist ein symptomatischer, kein ätiologischer; es ist deshalb für die Therapie von Wichtigkeit, den Sammelbegriff der Dysenterie nach ihren Ursachen in verschiedene Formen zu zerlegen.

Zum Schlufs spreche ich Herrn Professor Matsushita für seine freundliche Leitung dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank aus.

Kyoto, den 20. Juli 1907.

Tabelle

Agglutinationsversuche mittels Zusatz durch den Bazillus III

	50 fache Verdünnung nach Stunden						100 fache Verdünnung nach Stunden						200 fache Verdünnung nach Stunden						300 fache Verdünnung nach Stunden					
	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24
Bazillus I	2	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	S	1	1	2	2	3	S	1	1	2	2	3
» II	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	S	1	1	2	2	3
» III	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3
» IV	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3
» V	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3
» VI	S	1	2	3	3	3	S	1	1	3	3	3	S	1	1	3	3	3	S	S	1	2	2	3
» VII	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3
» VIII	1	1	2	2	2	2	S	S	1	1	2	2	0	S	1	1	2	2	0	S	1	1	2	2
» IX	2	3	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3	3
» XI	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	S	1	1	2	2	3
» XII	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	1	1	2	3	3
» XIII	2	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	S	2	2	3	3	3	S	1	2	3	3	3
» XIV	S	1	2	2	3	3	S	1	2	2	2	3	0	S	1	2	2	2	0	S	1	1	2	2
» XV	1	2	2	3	3	3	1	1	2	3	3	3	S	1	1	2	2	3	S	1	1	1	2	3
» XVI	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	1	2	2	3	3	1	1	2	2	3	3
» XIX	1	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3	3	S	1	1	2	2	3	0	S	1	1	2	3
» XXV	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	2	3	S	1	2	2	2	3
» XXVII	1	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	S	1	1	2	3	3	S	1	1	1	2	3
» XXVIII	1	1	2	2	3	3	S	S	1	2	3	3	0	S	S	1	2	2	0	S	S	1	1	2
» XXIX	1	2	2	3	3	3	S	1	1	2	3	3	S	1	1	2	3	3	0	S	1	1	2	3
» XXX	2	2	2	3	3	3	2	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	S	1	1	2	3
» XXXI	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	2	3	S	1	1	2	2	3
» XXXII	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3
» XXXIII	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3
» XXXIV	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	S	1	2	3	3	3	S	1	1	2	3	3
» XXXV	1	2	3	3	3	3	1	1	3	3	3	3	S	1	1	2	3	3	S	1	1	2	3	3
» XXXVI	1	2	2	3	3	3	S	1	2	2	3	3	S	1	1	2	2	3	S	1	1	2	2	2
» XXXVII	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	2	3
» XXXVIII	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3
» XXXIX	2	3	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	1	1	2	2	3
» XL	1	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	S	1	1	2	3	3	0	1	1	2	2	3
» XLI	1	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	S	1	1	3	3	3	0	S	1	2	2	3
» XLII	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	2	3	S	1	1	2	2	3	S	1	1	2	2	3
Bac. col. com.	0	0	0	0	S	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» dysenter.	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

VIII.

von Blutserum eines Kaninchens, das immunisiert wurde.

500 fache Verdünnung nach Stunden						1000 fache Verdünnung nach Stunden						5000 fache Verdünnung nach Stunden						10 000 fache Verdünnung nach Stunden					
1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24
S	S	1	1	2	2	0	S	S	1	1	1	0	0	S	S	S	S	0	0	0	S	S	S
0	S	1	1	2	2	0	S	S	S	1	1	0	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S	1
1	2	3	3	3	3	S	1	2	3	3	3	S	1	1	2	3	3	S	S	1	1	2	3
2	2	3	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	1	1	1	2	2	0	0	S	S	S	1
S	S	1	2	3	3	0	S	1	1	2	2	0	S	S	1	1	2	0	0	0	S	S	S
0	S	S	1	1	2	0	S	S	S	1	2	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0
1	2	2	3	3	3	S	1	1	2	3	3	0	S	1	1	2	2	0	0	S	S	1	1
0	0	S	S	1	1	0	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0
0	S	1	1	2	2	0	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0
S	S	1	1	1	1	0	S	S	S	1	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
S	1	1	2	2	2	0	S	S	1	1	2	0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0	0
0	S	1	1	1	2	0	0	S	S	1	1	0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	S	S
0	0	S	S	1	1	0	0	0	S	1	1	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
0	S	S	1	2	2	0	0	S	1	1	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
S	S	1	1	1	2	S	S	S	1	1	1	S	S	S	1	1	1	0	S	S	S	1	1
0	S	S	1	1	2	0	0	S	S	1	1	0	0	S	S	S	S	0	0	0	0	S	S
0	S	S	S	1	2	0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
0	S	S	1	1	2	0	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	S
0	S	S	1	1	2	0	0	S	S	1	2	0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S	S
0	S	S	S	1	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S	S	1	1	1	2	0	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0
S	S	S	1	1	2	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	S	S	1	1	2	0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
0	S	S	S	1	1	0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S	1	1	2	2	2	0	S	S	1	1	2	0	0	S	S	1	1	0	0	0	0	S	S
0	S	1	2	2	2	0	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S	S
0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle

Agglutinationsversuche mittels Zusatz

durch den Bazillus VII

	50 fache Verdünnung nach Stunden						100 fache Verdünnung nach Stunden						200 fache Verdünnung nach Stunden						300 fache Verdünnung nach Stunden					
	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24
Bazillus I	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3
» II	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3
» III	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» IV	3	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	1	1	2	3	3	3
» V	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3
» VI	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	1	1	2	3	3	3	S	1	2	3	3	3
» VII	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» VIII	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	S	1	2	2	3	3	S	S	1	2	2	3
» IX	2	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	S	1	1	2	2	3	S	S	S	1	1	2
» XI	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» XII	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3
» XIII	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	S	1	2	3	3	0	S	1	1	1	2
» XIV	1	2	3	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	S	1	1	2	3	0	S	S	1	1	2
» XV	1	2	3	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	S	1	1	2	3	0	S	S	1	1	2
» XVI	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
» XIX	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	1	2	3	3	1	1	1	2	3	3
» XXV	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	3	3	3	1	1	1	2	2	3
» XXVII	1	1	2	2	2	3	1	1	1	2	2	3	1	1	1	1	2	2	S	S	S	1	1	2
» XXVIII	1	2	2	3	3	3	S	1	1	1	2	3	S	S	1	1	1	3	0	0	S	S	S	1
» XXIX	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3
» XXX	1	1	2	2	3	3	S	1	2	2	3	3	S	S	1	1	2	3	0	S	S	1	2	2
» XXXI	1	1	2	2	3	3	1	1	2	2	2	3	1	1	1	2	2	2	S	S	1	1	2	2
» XXXII	1	1	2	2	3	3	1	1	2	2	2	3	1	1	2	2	2	3	S	S	1	2	2	2
» XXXIII	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3
» XXXIV	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	1	1	2	2	3	3
» XXXV	1	2	2	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	S	S	1	1	2	3
» XXXVI	1	1	2	3	3	3	1	1	1	2	2	3	S	S	1	1	2	2	S	S	1	1	1	2
» XXXVII	1	2	3	3	3	3	1	1	2	3	3	3	S	S	1	2	2	2	S	S	1	1	2	2
» XXXVIII	1	1	2	2	3	3	S	1	1	2	2	3	S	S	1	1	2	2	0	S	S	1	1	2
» XXXIX	1	2	3	3	3	3	1	1	2	2	3	3	1	1	2	2	2	3	S	1	1	2	2	2
» XL	1	1	2	2	3	3	1	1	1	2	2	3	S	S	1	1	1	2	S	S	S	1	1	2
» XLI	1	1	1	2	2	3	1	1	1	2	2	3	S	S	1	1	1	2	S	S	1	1	1	2
» XLII	2	2	3	3	3	3	1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	2	3	1	1	1	2	2	2
Bac coli com.	0	S	S	S	S	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
» dysenter.	0	0	S	S	S	S	0	0	S	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

IX.

von Blutserum eines Kaninchens, welches immunisiert wurde.

500fache Verdünnung nach Stunden						1000fache Verdünnung nach Stunden						5000fache Verdünnung nach Stunden						10000fache Verdünnung nach Stunden					
1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24	1	2	3	5	8	24
1	2	2	3	3	3	S	1	1	2	2	3	0	S	1	1	2	2	0	0	S	S	1	1
1	1	2	2	3	3	1	1	1	2	2	3	0	S	S	1	1	2	0	0	S	S	1	1
2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	S	1	1	2	2	3	0	S	1	1	2	2
1	1	1	2	2	3	S	S	1	1	2	3	0	S	S	1	1	2	0	0	S	S	1	1
1	2	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	1	1	1	2	2	2	0	S	S	1	1	1
S	1	1	2	2	3	S	S	1	1	1	2	0	S	S	S	S	1	0	0	0	0	0	0
3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	0	S	S	1	2	3
0	S	1	1	2	2	0	0	S	S	1	2	0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	0	S
0	S	1	1	2	2	0	0	S	S	1	2	0	0	S	S	S	1	0	0	0	0	0	S
2	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	S	1	1	1	2	2	0	S	S	S	1	1
S	1	2	3	3	3	0	S	S	1	2	2	0	S	S	1	1	2	0	0	0	S	S	S
0	0	S	S	1	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	1	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	S
0	0	S	S	1	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	S
3	3	3	3	3	3	1	2	3	3	3	3	1	1	2	3	3	3	0	S	1	1	2	3
0	S	S	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S	1	1	1	2	2	0	0	S	1	1	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1	2	3	3	3	S	S	1	1	2	3	S	S	1	1	2	3	0	0	S	S	1	1
0	0	S	S	S	2	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
0	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
0	0	0	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
S	1	1	2	2	2	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
S	1	1	2	2	3	S	S	1	1	2	2	0	0	S	S	1	1	0	0	0	0	S	1
0	0	S	S	1	2	0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0
0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	1	2	0	0	0	S	1	1	0	0	0	0	S	1	0	0	0	0	S	1
0	0	0	S	S	1	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	S	1	0	0	0	S	S	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	S	S	1	2	0	0	S	S	1	1	0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	S	S	0	0	0	0	0	S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Literatur.

1) Lösch, Massenhafte Entwickelung von Amöben im Dickdarm. Virchovsches Archiv Bd. 65. 1875.
2) R. Koch und Gaffky, Bericht über die Erforschung der Cholera. 1883.
3) Kartulis, Zur Ätiologie der Dysenterie in Ägypten. Virchovsches Archiv 105. 1886.
4) Osler, Über die Dysenterie und die bei dysenterischen Leberabszessen vorkommenden Amöba. Zentralblatt für Bakteriologie Bd. 7, Heft 23. 1890.
5) Councilmann und Lafleur, Amoebic dysentery. The John Hopkins Hospital Reports. II. 1891.
6) Quinke und Roos, Über Amöben-Enteritis. Berliner klin. Wochenschrift. 1893. Heft 45.
7) Kruse und Pasquale, Untersuchungen über Dysenterie und Leberabszefs. Zeitschrift für Hygiene Bd. 16, Heft 1. 1894.
8) Ziegler, Lehrbuch der patholog. Anatomie. 7. Aufl. 1887.
9) Ogata, Zur Ätiologie der Dysenterie. Zentralblatt für Bakt. Bd. 11, Nr. 9 und 10. 1892.
10) Grigorieff, Zur Frage der Mikroorganismen bei Dysenterie. Ref. Zentralblatt für Bakteriologie Bd. 12, Heft 24. 1892.
11) De Silvestri, Contributo allo studio dell' etiologia della dissenteria. La Riforma med. 1894. Nr. 292.
12) Maggiora, Einige mikroskopische und bakteriologische Beobachtungen während einer epidemischen dysenterischen Dickdarmentzündung. Zentralblatt für Bakteriologie. 1892. Bd. 11, Nr. 6—7.
13) Arnaud, Recherches sur l'étiologie de la dysenterie aiquë des pays chauds. Annales de l'inst. Pasteur. 1894. Nr. 7.
14) Celli und Fiocca, Über die Ätiologie der Dysenterie. Zentralblatt für Bakteriologie. 1895. Bd. 17, Nr. 9—10.
15) Shiga, Über den Erreger der Dysenterie in Japan. Zentralblatt für Bakteriologie. 1898. Bd. 23, Heft 14.
—, Über den Dysenteriebazillus (Bacillus dysenteriae). Zentralblatt für Bakteriologie. 1898. Bd. 24, Heft 22—24.
16) Kruse, Über die Ruhr als Volkskrankheit und ihren Erreger. Deutsche med. Wochenschrift. 1900. Nr. 40.
17) Gay und Duval, Acut Dysentery associated with the two Types of Bacillus dysenteriae, Shiga. Studies from the Rockefeller Institute for Medical Research. Vol. I, 1904.

18) Ono, Studium der Typen des Dysenteriebazillus. Monatsschrift für Bakteriologie (japanisch). 1907. Nr. 134.
19) Galli-Valerio, Zur Ätiologie und Serumtherapie der menschlichen Dysenterie. Zentralblatt für Bakteriologie Bd. 20. 1896.
20) Valagussa, Ätiologie und Serumtherapie der Kinderdysenterie. Annali d'igiene spermentale. Vol. 10, Nr. 4, 1900.
21) Escherich, Zur Ätiologie der Dysenterie. Zentralblatt f. Bakteriologie. 1899. Bd. 26, Nr. 13.
22) Deycke, Zur Ätiologie der Dysenterie. Deutsche med. Wochenschrift. 1901. Nr. 1.

Über das japanische Bad und die Einführung eines Volksbades nach System Matsushita.

Von

Dr. med. **Nakao Abe.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Kaiserlichen Universität zu Kyoto.
Direktor: Prof. Matsushita.)

Der Japaner ist, wie allgemein bekannt, ein grofser Freund des Bades und der Sauberkeit. Diese Eigenschaften stehen mit seiner Geschichte in Verbindung. Nach der alten japanischen Geschichte hat ein Gott Amanominakanushino-Kami Japan erschaffen und mit seinen Kindern bevölkert. Diese Kinder bzw. deren Nachkommen waren nun der Meinung, dafs, wenn der Vater ein Gott war, sie, die Kinder, auch Götter seien und Gott gleich leben und gut sein müfsten. Das Wort »Gott« heifst in der neuen japanischen Sprache »Kami«, während in der früheren» japanischen Sprache »Kami« die Bezeichnung für Gott und Mensch war. Es geht hieraus hervor, dafs man früher zwischen Gott und Mensch keinen Unterschied machte, und zwar war dies der Fall bis vor 2567 Jahren. Die Menschen, welche zur damaligen Zeit lebten, betrachtet man jetzt noch als Gott, und nur die nach dieser Zeit geborenen sind die Menschen (Hito). Die japanische Religion, Shintoismus, verehrt nur die Vorfahren, welche Gott waren.

Wollte man Gott, d. h. seinem Ahnvater, dienen, so mufste man ganz rein sein, denn Gott wollte keinen unreinen Menschen.

Unsauberkeit (Kegare) wurde als die schlimmste Sünde betrachtet, die man nur durch das Wasserbad gut beseitigen konnte. Da man glaubte, dafs Geist und Fleisch dasselbe sei, so suchte man auch die geistige Kegare durch das Wasserbad zu beseitigen.

Der Begriff der Kegare war allerdings sehr weitgehend, man war unrein, wenn man zum Beispiel einen toten Menschen oder ein totes Tier gesehen oder wenn man mit zweifelhaften Personen verkehrt hatte. Die Folge davon war, dafs man sich unausgesetzt badete und reinigte. Frauen galten während der Menstruation für unrein; sie wohnten während dieser Zeit gesondert und durften Gott nicht dienen. Man glaubte ferner anfänglich, dafs Kegare die Ursache von Krankheiten sei und dafs körperliche Unsauberkeit unglücklich mache. Kranke nahmen keine Medizin, sondern nur ein Wasserbad, und man war der Meinung, dafs nach Entfernung des Schmutzes vom Körper auch die Krankheit geheilt sei. Die gröfste Kegare wurde als die Ursache der Leprakrankheit angesehen, und man nannte die letztere Gottesstrafkrankheit. Die Leprakranken durften Gott nicht dienen, es sei denn, dafs sie vorher siebenmal badeten.

Bis vor ca. 3000 Jahren badete man nur kalt. Damals entdeckte Sukunahikonano-Kami in Doogo (in Jyo) ein warmes Mineralbad und wies nach, dafs dieses Bad für Kranke grofsen Vorteil habe. Später fand er ein gleiches Bad in Arima (in Settsu). Beide Bäder sind seit der Vorgeschichte Japans berühmt und werden auch jetzt noch sehr von Leidenden, welche dort Heilung suchen, besucht.

Nach der Entdeckung der warmen Mineralbäder ging man nun bald vom kalten zum warmen Bade über, denn man fand, dafs letzteres doch angenehmer ist. Indessen mufste das Bad, welches vor dem Gottesdienste genommen wurde, kalt sein, wie dies auch jetzt noch vorgeschrieben ist, zum wenigsten war das Waschen der Hände und des Mundes mit kaltem Wasser erforderlich. Man glaubte, dafs Gott nur das Natürliche liebe, wozu man warmes Wasser nicht zählte.

Das Vorhandensein von Badehäusern weist die japanische Geschichte seit dem 12. Jahrhundert nach. Damals hatte die Kaiserin Komyo ein Badehaus errichtet und eigenhändig 1000 Leute gereinigt, nur um Gott zu dienen. Seit dem Jahre 850 n. Chr. hatte man verschiedene Arten von Bädern, Dampfbäder, Heifsluftbäder, Wannenbäder usw., und bis 1300 n. Chr. sehr viele öffentliche Badehäuser, die sich einer ungeheueren Frequenz erfreuten, da der Aberglaube, unrein zu sein, zum unausgesetzten Baden veranlafste. Aber dieses löbliche Tun brachte auch eine unangenehme Erscheinung, denn



Badezimmer des Internates der Universität zu Kyoto.

die Sittlichkeit litt erheblich darunter. Der geschlechtliche Verkehr der Badenden mit der weiblichen Bedienung in den Badehäusern nahm derartig überhand, dafs die Regierung einschreiten mufste; anfänglich zwar mit wenig Erfolg, denn erst vor etwa 40 Jahren wurde die weibliche Bedienung gänzlich abgeschafft.

Gegenwärtig badet man im allgemeinen täglich einmal, zum mindesten jedoch alle zwei Tage.

In der Bauweise der Badehäuser ist gegen früher eine gröfsere Veränderung nicht eingetreten. Hauptsächlich wird das Wannenbad benutzt. Dasselbe enthält, wie das beifolgende Bild zeigt, eine grofse Wanne aus Holz, Eisen oder Stein. Der Fufsboden ist aus Holz, Stein oder Zement hergestellt. Der Badende

reinigt zunächst in den bereitstehenden kleinen Holzgefäfsen die schmutzigen Körperteile und taucht dann in die Wanne; dann verläfst er die Wanne, um sich aufserhalb derselben mit Seife und Tuch abzuwaschen. In dem bereitstehenden besonderen Behälter befindet sich warmes Wasser, um den Körper damit abzuspülen. Die Badewanne wird täglich nur einmal gefüllt und frisches Wasser nur zugesetzt, soweit dies hinsichtlich der Temperatur und der Wassermenge notwendig ist.

Da immer mehrere Personen zu gleicher Zeit baden können und das ganze Bad sehr einfach gehalten und sehr billig herzustellen ist, ist der Preis für das einzelne Bad sehr niedrig; er beträgt pro Kopf 1—2 Sen (= 2—4 Pf.). Trotzdem macht der Badeanstaltsbesitzer ein gutes Geschäft, obwohl in Japan alles so teuer ist wie in Deutschland. Diese Badehäuser befinden sich fast in jeder Strafse der Städte und Dörfer. Gut situierte Einwohner haben ein eigenes Bad in ihren Häusern.

Das Baden mehrerer Personen in demselben Wasser einer Wanne ist im strengsten Sinne nicht hygienisch, doch erfolgen Krankheitsansteckungen höchst selten. Die europäiscnen Wannenbäder machen aber hiervon keine Ausnahme, weil die Übertragung von Herpes, Blenorrhoea u. a. bei beiden Bädern möglich ist.

Im Gegensatz zu dem Japaner badet der Europäer im allgemeinen wenig. Dies hat seine Ursache darin, dafs die Bäder in Europa teurer sind und weniger Gelegenheit zum Baden vorhanden ist. Zur Hautpflege ist aber das Baden besonders wichtig, und deshalb ist es notwendig, Badegelegenheiten, die in praktischer und hygienischer Hinsicht allen Anforderungen genügen, zu schaffen. Ich halte das japanische Wannenbad für sehr geeignet. Da aber bei demselben gleichzeitig mehrere Personen in demselben Wasser baden, so sind, wie ich bereits angeführt habe, Krankheitsübertragungen nicht ausgeschlossen. Ich habe deshalb das Badewasser in bakteriologischer Beziehung einem Studium unterzogen.

Hierzu wählte ich das Bad des Gefängnisses zu Kyoto, da sich hier die Anzahl der Bäder und der badenden Personen

leicht kontrollieren lassen. Das Badewasser habe ich vor und nach dem Bade untersucht, mit nach Hesse hergestelltem Haydennährstoffe — Agarnährboden — Plattenkulturen angelegt, die Platten zum Teil 2 Tage lang im Brutschrank einer Temperatur von 37° C ausgesetzt, zum Teil 4 Tage lang in Zimmertemperatur aufbewahrt und die Bakterien sich entwickeln lassen. Ferner habe ich von dem Badewasser, in welchem eine bestimmte Zahl von Personen gebadet hatte, 2 l in sterilisierten Kolben aufgenommen und 24 Stunden lang an einem kalten dunklen Ort aufbewahrt, dann die Flüssigkeit weggegossen und den gesammelten Bodensatz zentrifugiert. Mit der Masse habe ich Deckglaspräparate angefertigt, Tierversuche angestellt und auf Hessesche Nährböden für Tuberkelbazillen aufgestrichen, endlich die von dem Bodensatz hergestellte Kultur sich unter Wasserstoff entwickeln lassen. Durch dieses Verfahren habe ich das Vorhandensein von Tuberkelbazillen, Tetanusbazillen, Gonokokken, Pneumokokken nachgewiesen.

Zunächst war es mir wissenswert, wie viele Bakterien durch das Baden in das Wasser gelangen. Ich liefs deshalb in einer kleinen Wanne, welche ca. 160 l Wasser enthielt, 20 Personen hintereinander baden und sich im Bad mit Tüchern den Körper abreiben. Dies Experiment erfolgte viermal, aber immer mit anderen Personen. Nach dem Durchschnittsresultat der Untersuchung enthielt:

1 ccm Brunnenwasser, bevor es in die Wanne gegossen wurde	31 359	Kolonien
1 ccm Badewasser in der Wanne, jedoch vor dem Baden	1 512 479	»
1 ccm Badewasser, nachdem sich 1 Person gebadet hatte	5 330 861	»
1 ccm Badewasser nach dem Baden von 10 Personen	124 109 444	»
1 ccm Badewasser nach dem Baden von 20 Personen	2 086 612 500	»

In fünf Fällen liefs ich je 12 Frauen in einer Wanne baden und im Badewasser mit den Händen den Körper abreiben. Die Wassermenge betrug einschliefslich des Zuschusses für abgelaufenes Wasser ca. 1530 l.

Ich fand in:

1 ccm Brunnenwasser	10 075	Kolonien
1 » Badewasser in der Wanne vor dem Baden	68 475	»
1 » » nach dem Baden von 12 Personen	562 855	»
1 » » » » » » 24 »	1 706 011	»
1 » » » » » » 36 »	2 482 833	»
1 » » » » » » 48 »	3 853 449	»
1 » » » » » » 60 »	6 935 028	»

900 männliche Personen badeten in 6 Abteilungen und fünfmaliger Wiederholung in einer Wanne von ca. 4800 l. Das Resultat war folgendes. Es enthielt:

1 ccm Brunnenwasser		13 254	Kol.
1 » Badewasser vor dem Baden		703 914	»
1 » » nach dem Baden von ca. 25 Personen	ca.	5 440 000	»
1 » » » » » » » 200 »	»	20 400 000	»
1 » » » » » » » 400 »	»	123 100 000	»
1 » » » » » » » 600 »	»	683 300 000	»
1 » » » » » » » 700 »	»	954 700 000	»
1 » » » » » » » 900 »	»	1 799 000 000	»

An schädlichen Bakterien sind bei 103 vorgenommenen Untersuchungen im Badewasser gefunden worden:

Bacillus coli communis	100%
Streptococcus pyogenes	93 »
Bacillus pyocyaneus	50 »
Micrococcus pyogenes	48 »
Soorpilze	22 »
Trichophyton tonsurans	9 »
Achorion Schönleinii	2 »

Der Bodensatz des Badewassers enthielt bei 14 Untersuchungsfällen:

Micrococcus gonorrhoeae	100%
Bacillus tuberculosis	50 »
Streptococcus lanceolatus	50 »
Bacillus telani	14 »

Obwohl die im Badewasser nachgewiesenen Bakterienzahlen ganz erheblich sind, ist die Zahl der schädlichen Bakterien eine verhältnismäfsig geringere mit Ausnahme des Bacillus coli communis; es sind meistens Saprophyten. Wenn nun auch die Ge-

fahren, denen man sich beim Baden aussetzt, nicht erheblich sind und man sich deshalb nicht besonders zu ängstigen braucht, so mahnt das Vorhandensein von schädlichen Bakterien und damit die Möglichkeit einer Krankheitsübertragung doch zu einer gewissen Vorsicht. Es ist nicht ausgeschlossen, dafs bei offenen Wunden Eiterungen entstehen und dafs auch Herpes usw. übertragen werden.

Levy hat nachgewiesen, dafs bei Frauen das Badewasser in die Vagina eindringt, und es ist anzunehmen, dafs durch die im Badewasser vorhandenen Gonokokken Geschlechtskrankheiten übertragen werden können. Trotzdem Versuche ergeben haben, dafs tausendfach verdünnter gonorrhoescher Eiter keine Virulenz mehr hat, bleibt immerhin die Gefahr der Übertragung, weil der Eiter im Badewasser zusammenhängend bleibt und sich nicht auflöst.

Wie man hieraus sieht, ist das Baden in einem gemeinschaftlichen Behälter immerhin mit einer gewissen Gefahr verbunden, aber diese Gefährlichkeit besteht nicht nur bei den japanischen Bädern, sondern auch bei den europäischen. Sie bleibt auch bestehen, wenn nach jedem genommenen Bad das Wasser erneuert wird, da sich die Bakterien an die Wände der Wanne festsetzen. Um die Bakterien gänzlich unschädlich zu machen, müfste die Wanne nach jeder Benutzung mit Dampf sterilisiert werden, was kaum durchführbar ist. Wir müssen deshalb auf anderem Wege die Schädlichkeit, welche das Baden mit sich bringt, zu beseitigen suchen.

Zu diesem Zweck hat Herr Professor Matsushita die nachstehende Skizze (S. 185) zu einer Badeanstalt entworfen, welche ich wie folgt erläutere.

Für jede badende Person ist ein verschliefsbarer Schrank zur Aufbewahrung der Kleider vorhanden, von dem der Schlüssel dem Wärter zur Verwahrung übergeben wird. Es wird zunächst ein Brausebad genommen und der Körper gereinigt, alsdann erfolgt das Baden in der Wanne. Das Abreiben des Körpers nach dem Baden hat aufserhalb der Wanne zu geschehen.

Wanne und Fufsboden sind aus wasserdichten Stoffen, Porzellan usw. Das Wasser wird täglich drei- bis viermal erneuert. In der Zwischenzeit läuft ständig frisches Wasser zu und durch einen Ablauf schmutziges Wasser ab. Um denjenigen Einwohnern, welche am Tage durch ihren Beruf verhindert sind, das Baden zu ermöglichen, bleibt die Anstalt bis ungefähr

Wäscherei
Heizungsraum
Aufenthaltsraum für die Bedienung
Warteraum
Brausen
Wanne
Wanne
Badezimmer
Badezimmer
Brausen
Friseur
Warteraum
Raum zum Entkleiden
Kleider-
schränke
Kleider-
Raum zum Entkleiden
schränke
Warteraum
Kasse
Eingang
für Frauen
für Männer

10 Uhr abends geöffnet. Alsdann wird die Wanne entleert und nebst den Baderäumen gründlich gereinigt. Zur Bedienung sind nur vier Personen nötig, und zwar für die Kasse eine, für den Entkleidungsraum zwei und für die Heizung eine Person.

Dieses System hat im Verhältnis zu den jetzt in Europa gebräuchlichen Badewannen-Einrichtungen folgende Vorzüge:

1. Der Wasserverbrauch ist ein geringerer,
2. es können mehrere Personen gleichzeitig baden,
3. es ist weniger Bedienung erforderlich und

4. die Bauweise ist einfach, daher nicht teuer, und die Badeanstalten lassen sich in allen Strafsen leicht errichten. Durch diese Vorzüge wird das Baden billiger, die Gelegenheit zum Baden bequemer und häufiger.

Für die Hautpflege ist das Baden von grofsem Vorteil, und das öffentliche Interesse erfordert es, dafs den Einwohnern die Möglichkeit zu baden in ausgiebiger Weise geboten wird. Das japanische Bad ist nun zwar sehr bequem eingerichtet, da aber immer viele Personen zusammen baden und die Erneuerung des Wassers sehr langsam erfolgt, so ist auch die Gefahr einer Krankheitsübertragung vorhanden, wenn auch die Zahl der pathogenen Bakterien gering ist. Diese Gefahr scheint bei dem europäischen Bad zwar geringer, dafür ist es aber zu teuer, weil es in seiner inneren und äufseren Ausstattung und Einrichtung zu grofsartig ausgeführt wird und mehr einem Luxusbau als einer der Gesundheitspflege dienenden Anlage, die auch dem Geringsten zugänglich sein soll, gleicht. Ich halte deshalb die Einführung des Systems nach Professor Matsushita, wie ich es vorstehend beschrieben habe, für sehr geeignet. Die Gefahren der Krankheitsübertragung erscheinen bei ihm gering, und der Preis für das Bad wird sich so niedrig stellen, dafs der ärmste Mann sich der Wohltat eines Bades erfreuen kann.

Über das Verhalten der Bakterien an der Oberfläche fliefsender Gewässer.

Von

Max Rothermundt

aus Petersburg.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Strafsburg i/Els.)

In den letzten Jahren hat Professor Forster viele Untersuchungen über den Bakteriengehalt des Rheins und der Ill angestellt. Die grofsen Schwankungen in der Keimzahl der Bakterien an der Oberfläche, die bei diesen Versuchen gefunden wurden, veranlafsten ihn, diese Erscheinung genauer zu untersuchen und ihre Ursache festzustellen. Zu diesem Zwecke hat er das Wasser ein und desselben Flusses an ein und demselben Tage an verschiedenen Stellen untersucht. Die Wasserproben wurden Stellen entnommen, an denen das Flufsbett verschieden breit ist, daher auch selbstverständlich bei bald stärkerer bald schwächerer Strömung. Bei dieser Art von Versuchen haben sich besonders grofse Unterschiede in der Anzahl der Bakterien herausgestellt.

Ill.

Dat.	Starke Strömung		Mittlere Strömung		Schwache Strömung	
	Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe
1906						
6. II.	59 300	12 900	—	—	—	—
7. II.	42 700	8 790	—	—	—	—
10. III.	62 550	52 970	99 800	49 750	1 032 000	54 860
4. VII.	—	—	—	—	2 900 000	31 720
3. X.	26 900	22 940	—	—	—	—
8. XI	—	—	—	—	465 800	36 450

Rhein.

Dat.	Starke Strömung		Dat.	Sehr starke Strömung	
	Oberfl.	Tiefe		Oberfl.	Tiefe
3. X.	34 540	20 820	3. VII.	2360	1680
7. XI.	83 100	4440	4. VII.	2545	3240 oberh.
8. XI.	14 000	5520 oberh.	4. VII.	3820	3880 unterh. Strafsburg
8. XI.	29 800	5180 unterh. Strafsburg			

Auf Grund seiner Beobachtungen ist Professor Forster zu dem Schlufs gekommen, dafs die Keimzahl der Bakterien in hohem Mafse von der Stromgeschwindigkeit beeinflufst wird. So konnte er in der Ill beobachten, dafs bei der durchschnittlichen Stromgeschwindigkeit der Ill die Anzahl der Bakterien an der Oberfläche sich in derselben auf einige Zehntausende in einem Kubikzentimeter beläuft, an Stellen dagegen, an denen die Ill gestaut und die Strömung infolgedessen sehr gering oder fast ganz aufgehoben ist, die Keimzahl bis zu Millionen in 1 ccm anwächst.

Bei den eben erwähnten Versuchen wurden jedesmal auch Proben von der Oberfläche des Wassers und aus einer Tiefe von 0,3 bis 1 m entnommen. Das Ergebnis war, dafs die Keimzahl der Bakterien an der Oberfläche meist gröfser war als die in der Tiefe. Dasselbe hat auch Ernst Meyer[1]) in seiner Arbeit über den Bakteriengehalt der Ill, die er unter Anleitung von Professor Forster gemacht hat, feststellen können. Er hat das Illwasser an der Oberfläche, in einer Tiefe von 50 cm und 2 m untersucht. Stets hat er grofse Differenzen in der Keimzahl dabei gefunden.

Das Verhältnis der Bakterien in der Tiefe zu denen an der Oberfläche eines Wassers festzustellen, und die Ursache der grofsen Schwankungen, denen dieses Verhältnis unterworfen, näher zu untersuchen, ist mir von meinem Chef und Lehrer Professor Forster als Aufgabe gestellt worden.

---

1) Ernst Meyer, Über den Bakteriengehalt der Ill oberhalb der Einmündung der Strafsburger Schmutzwässer. Diss. Strafsburg 1901.

Wenn bis jetzt, soweit ich aus der Literatur ersehen konnte, keine ausführlicheren Arbeiten darüber vorliegen, so ist der Grund dafür wohl darin zu suchen, dafs man keine geeigneten Hilfsmittel zur Verfügung hatte, mit denen man die oberflächlichsten Wasserschichten einer bakteriologischen Untersuchung unterziehen konnte. Um blofs die äufserste Wasserschicht zu gewinnen, habe ich nach Angabe von Professor Forster folgenden Apparat herstellen lassen: Ein Platin-Iridiumdraht von 0,5 mm Stärke wird an einem Ende zu einer flachen Spirale, in der Art einer Uhrfeder gedreht, so dafs das obere Ende des Drahtes in der Mitte der Spirale senkrecht zu ihr zu stehen kommt. Das äufsere Ende der Spirale ist gegen die vorletzte Windung zu abgebogen. Die ganze Spirale besteht aus $3\frac{1}{2}$ Windungen, die so weit von einander entfernt stehen, dafs ein Tropfen Wasser fest daran haften bleibt. Die fertige Spirale wird in einem handlichen Halter befestigt. Durch genaue Wägung des haftenbleibenden Tropfens wird die Spirale ein für alle Mal geeicht, so dafs man stets mit gleichen Mengen von Flüssigkeit arbeitet. Da jede Verbiegung der Windungen der Spirale das Volumen des zur Untersuchung kommenden Tropfens ändern würde, ist es zweckmäfsig, dieselbe in einer passenden Glashülse aufzubewahren.

Die Handhabung dieser Spirale ist folgende: Die flache Spirale wird parallel zu dem Wasserspiegel so weit gesenkt, bis sie denselben gerade eben berührt, dann gleich wieder hochgehoben. An den Windungen bleibt ein Tropfen hängen, der der äufsersten Wasserschicht angehört und nun weiter verarbeitet werden kann. Diese einfache Mefsspirale, die sich durch Ausglühen sehr leicht sterilisieren läfst, hat sich bei meinen Versuchen aufs beste bewährt.

Während es für die Füllungsart der lockenförmigen Spiralen nicht darauf ankommt, wie tief man diese in die zu untersuchende Flüssigkeit eintaucht, mufs man bei der flachen Spirale genau darauf achten, dafs ihre untere Fläche eben den Wasserspiegel berührt, da, wie aus den nachstehenden Wägungen zu ersehen ist, ein tieferes Eintauchen derselben das Volumen des zu unter-

suchenden Tropfens verändert und die Untersuchung infolgedessen ungenau ausfallen würde. Die Eichung wird in der Weise vorgenommen, dafs aus einem gewogenen Wägefläschchen mit Wasser ein Tropfen mit der Spirale entnommen und die Gewichtsabnahme sofort bestimmt wird. So erhielt ich:

Wägungen des Fassungsvermögens der flachen Spirale.

Das Volumen des Tropfens bei oberflächlichster Wasserentnahme	Das Volumen des Tropfens beim tieferen Eintauchen der Spirale in das Wasser
20,6 mg	29,8 mg
20,2 »	30,3 »
19,7 »	29,5 »
19,4 »	29,4 »
19,9 »	30,4 »
durchschn. Wert: 19,96 mg.	durchschn. Wert: 29,88 mg.

Für die Untersuchungen, die ich ausführte, wurde das Wasser oberhalb Strafsburgs bei den sogenannten »Gedeckten Brücken« an der Mündung des Rhein-Rhône-Kanals in die Ill entnommen. Da das Flufsbett an dieser Stelle recht breit und infolgedessen auch die Strömung vermindert ist, schien mir dieser Platz besonders geeignet, zumal ich von vorbeifahrenden Schiffen an diesem Platze nicht gestört wurde. Da ich alle Versuche am selben Platze vorgenommen habe, die Stromgeschwindigkeit während der ganzen Versuchszeit keine merklichen Veränderungen zeigte, und ich infolgedessen in dieser Beziehung stets mit demselben Faktor zu rechnen hatte, kann ich den Einflufs der Strömung auf die Keimzahl, wie ihn Professor Forster durch seine Versuche nachgewiesen hat, von vornherein unberücksichtigt lassen. Sämtliche Versuche sind vom Boote aus angestellt worden. Das Boot wurde am linken, westlichen Ufer der Ill so verankert, dafs die Längsseite desselben mit der Stromrichtung einen spitzen Winkel bildete. Auf diese Art und Weise konnten Schmutzteilchen, die vom Boote durch die Strömung abgeschwemmt

wurden, nicht in das zu untersuchende Wasser gelangen. Das Wasser wurde selbstverständlich auf der der Strömung zugewandten Bootseite entnommen. Bemerken möchte ich noch, dafs das Ufer mit hohem Schilf und Gestrüpp bestanden ist, so dafs mein Arbeitsplatz bereits ziemlich früh am Nachmittage im Schatten lag.

Ich ging nun in folgender Weise vor: Nachdem die Mefsspirale ausgeglüht und wieder abgekühlt war, wurde in der oben beschriebenen Weise ein Tropfen von der oberflächlichsten Wasserschicht der Ill entnommen. Der Tropfen wurde mit Heyden-Agar vermischt und eine Petrische Schale damit beschickt. Das Wasser aus der Tiefe schöpfte ich mit dem von Professor Forster angegebenen Schöpfapparat, der bereits von Meyer[1]) beschrieben worden ist. Aus der Flasche wurde dann ebenfalls mit derselben Spirale ein Tropfen genommen und in derselben Weise, wie oben erwähnt, verarbeitet. Um Zufälligkeiten auszuschalten und Durchschnittswerte zu erhalten, wurden jedesmal zwei bis drei Platten gegossen. Die erstarrten Platten wurden am Schlufs der einzelnen Versuchstage in das Institut gebracht und dort in den am hiesigen Institut üblichen Kulturbüchsen im Brutschrank bei 24° C aufbewahrt. Die Kulturbüchsen, wie sie von Herrn Professor Forster angegeben sind, eignen sich besonders gut zur längeren Aufbewahrung von Platten, da ein Schälchen mit Flüssigkeit, das in die Kulturbüchse hineingestellt wird, das allzuschnelle Austrocknen der Nährböden verhindert.

Die Platten wurden stets am 15. Tage gezählt. Nach dem 15. Tage konnte ich keine weitere Vermehrung der Keimzahl nachweisen. In den mit Oberflächenwasser gegossenen Platten wurde die Keimzahl mit dem Mikroskop in der bekannten Weise bestimmt, dagegen mufste bei den aus der Tiefe angelegten Platten wegen der geringen Zahl der zur Entwicklung gekommenen Kolonien die Zählung mit der Lupe vorgenommen werden. Erwähnen möchte ich hier noch, dafs verschiedene Vorversuche

1) Zentralblatt f. Bakt., Bd. 32, Nr. 11, S. 845.

zeigten, dafs das Hessesche Heyden-Agar in der Zusammensetzung, wie es hier am Institute für Wasseruntersuchungen gebraucht wird, für meine Versuche am geeignetsten war.

Gleichzeitig mit der Wasserentnahme wurden stets die Lufttemperatur, Wasseroberflächentemperatur und die Temperatur des Wassers in einer Tiefe von 25 cm aufgenommen. Um die Wasseroberflächentemperatur messen zu können, habe ich folgendes Thermometer anfertigen lassen. Das Quecksilber befindet sich in einer feinen flachen Glasspirale. In der Mitte der Spirale ist senkrecht zu ihr das Skalenrohr angebracht. Um den Einflufs der Lufttemperatur auszuschalten, ist die der Skala zugewandte Seite der Spirale mit einer Korkplatte bedeckt. Das Thermometer wird so weit gesenkt, bis die flache Spirale die Wasseroberfläche gerade berührt. An der Skala kann dann annähernd die Temperatur der obersten Wasserschicht abgelesen werden.

Da zu erwarten war, dafs äufsere Einflüsse, wie Licht, Wärme und Witterung jedenfalls auf die Bakterien einen Einflufs ausüben, schien es mir von gröfster Wichtigkeit zu sein, in erster Linie festzustellen, ob das Verhältnis der Bakterien in der Tiefe zu den Bakterien an der Oberfläche ein konstantes ist, oder ob es von den äufseren Verhältnissen in irgend welcher Art und Weise verändert wird. Um die äufseren Einflüsse beobachten zu können, habe ich mehrere Wasserproben im Laufe eines Tages zu verschiedenen Stunden entnommen.

Im folgenden will ich jetzt die einzelnen Versuche einer genaueren Betrachtung unterziehen. Bei der Besprechung werde ich mich nicht streng an die chronologische Reihenfolge der Untersuchungstage halten, sondern um den Einflufs der äufseren Verhältnisse recht deutlich und prägnant darzustellen, die Versuche in bestimmten Gruppen anführen. Um das Verhältnis der Bakterien in der Tiefe zu denen an der Oberfläche, und den Einflufs der Wärme und der Intensität des Sonnenlichtes auf die Bakterien anschaulicher zu machen, als es vielleicht beim ersten Blick auf die Tabellen der Fall ist, habe ich die Zahlen aufser-

dem noch graphisch dargestellt. Zur Erläuterung der Kurven will ich hier bemerken, dafs die Abszissenachse jeweils die Stunden angibt, während die Ordinatenachse für die ausgezogene und gestrichelte Kurve die Keimzahl an der Oberfläche resp. in der Tiefe, berechnet auf 1 ccm, für die punktierte Kurve dagegen die Temperatur der Luft anzeigt.

Gruppe I.

Die Wasserproben von Versuch 1—4 sind an Tagen entnommen worden, an denen während der ganzen Versuchszeit Windstille herrschte, die Sonne ohne Unterbrechung schien und der Himmel vollkommen wolkenlos war.

Erwähnen möchte ich hier nochmals, dafs sämtliche Untersuchungen genau in der oben geschilderten Weise unter strengster Beobachtung aller bakteriologischen Kautelen ausgeführt worden sind.

Versuch I.

Bei dem Versuch I vom 16. Juli 1907 sind am Vormittage und im Laufe des Nachmittages je zwei Wasserproben entnommen worden. Und zwar sowohl von der Oberfläche des Wassers als auch einer Tiefe von 25 cm. Die Ergebnisse sind:

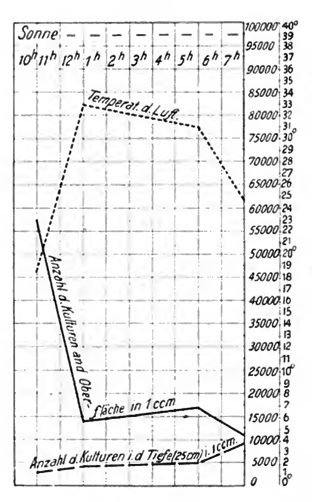
Tabelle I, 16. Juli 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhältn. d. Bakt. i. d. T. z. denen an d. Ob	Wetter
	Luft	Wasser Ob.	Wasser T.	Ob.	T.		
h	°	°	°				
10	18,5	16	15,5	58 200	3850	1 : 15	Sonne
12	33	16,5	15,5	14 200	2500	1 : 5,7	
4	31	19	16	16 600	6900	1 : 2,4	
7	24,5	17,5	16	10 900	9850	1 : 1,1	

Versuch vom 16. Juli 1907.



Kurve I.



——— Anzahl der Kulturen an der Oberfläche in 1 ccm,
— · — Anzahl der Kulturen in der Tiefe (25 cm) in 1 ccm,
· · · · Temperatur der Luft.

Wenn wir die Kurve betrachten, so sehen wir zunächst, dafs die Keimzahl der Bakterien an der Oberfläche grofsen Schwankungen unterworfen ist, während die Anzahl der Bakterien in der Tiefe nur geringe Unterschiede aufweist. Die Temperaturkurve zeigt einen Verlauf, wie er von vornherein zu erwarten war. Bei einer genaueren Betrachtung der ausgezogenen Kurve finden wir in den Vormittagstunden einen sehr steilen Abfall, in den Nachmittagstunden einen geringen Anstieg und gegen Abend wieder ein leichtes Absinken. Die gestrichelte Kurve zeigt bis zum Nachmittag eine geringe gleichmäfsige Steigerung, die gegen Abend etwas steiler wird.

Versuch II.

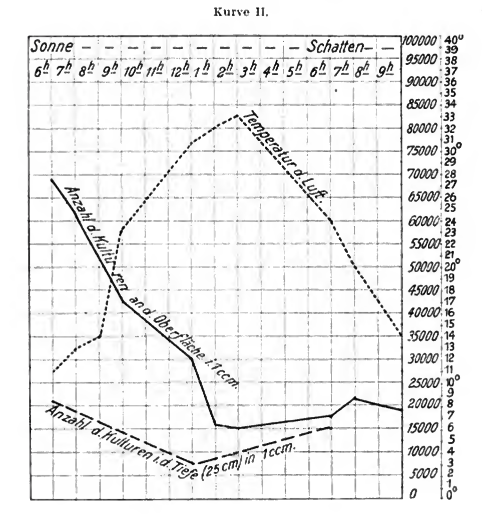
Bei dem Versuch vom 27. August wurde das Wasser an der Oberfläche von 6 Uhr morgens bis 9 Uhr, von 12 bis 2 Uhr und von 6 bis 9 Uhr abends stündlich untersucht. Da der Bakteriengehalt in der Tiefe keinen so grofsen Schwankungen unterworfen ist, habe ich aus der Tiefe blofs um 6 Uhr morgens, 12 und 6 Uhr nachmittags Proben entnommen.

Tabelle II, 27. August 1907.

Zeit	Temperatur Luft	Temperatur Wasser Ob.	Temperatur Wasser T.	Anzahl der Keime in 1 ccm Ob.	Anzahl der Keime in 1 ccm T.	Verhältn. d. Bakt. i. d. T. z. denen an d. Ob.	Wetter
h	°	°	°				
6	11	15,5	16	69 040	21 400	1 : 3,3	Sonne
7	13	15,5	—	62 410	—	—	»
8	14	16	—	52 289	—	—	
9	23	16,5	—	43 855	—	—	
12	30,5	18,5	18	30 783	8 150	1 : 3,7	
1	32	18,75	—	15 603	—	—	
2	33	19,25	—	14 756	—	—	
6	24	19,5	18,75	18 976	15 300	1 : 1,2	
7	20	19,25	—	21 927	—	—	
8	—	—	—	—	—	—	
9	14	18	—	19 299	—	—	

Versuch vom 27. August 1907.

Kurve II.



Wieder sehen wir, dafs die Anzahl der Bakterien an der Oberfläche bis 2 Uhr stark abgenommen hat und während der späteren Nachmittagsstunden langsam zunimmt. Der Bakteriengehalt in der Tiefe sinkt bis 12 Uhr von 21000 auf 8000, um um 6 Uhr eine Höhe von 15000 zu erreichen.

Versuch III.

Bei diesem Versuch, der am 2. September stattfand, wurden während des Tages 8 Proben der Oberfläche des Wassers und 4 Proben aus einer Tiefe von 25 cm entnommen.

Tabelle III, den 2. September 1907.

Zeit	Temperatur Luft	Temperatur Wasser Oberfl.	Temperatur Wasser Tiefe	Anzahl der Keime in 1 ccm Oberfl.	Anzahl der Keime in 1 ccm Tiefe	Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
h	°	°	°				
9	24	19	18,75	54 800	12 800	1 : 4,5	Sonne
10	27	19	—	45 110	—	—	
12	29	19,5	19	18 546	11 600	1 : 1,6	»
12 1/2	29	19,5	—	16 867	—	—	
3	28	19,25	19	16 024	11 900	1 : 1,3	
3 1/2	28	19,25	—	17 475	—	—	
7	22	19	19	23 615	13 300	1 : 1,8	Schatten
7 1/2	20	19	—	28 253	—	—	»

Der Verlauf der ausgezogenen Kurve (S. 159) zeigt bei diesem Versuch ein wesentlich anderes Bild. Die Keimzahl der Bakterien an der Oberfläche erfährt von 9 Uhr morgens bis 12 Uhr eine grofse Verminderung, bis 3 Uhr bleibt sie ziemlich konstant und nimmt bis 7½ Uhr dann ständig zu. Die Zahl der Bakterien in der Tiefe bewegt sich in der ganzen Versuchszeit zwischen 10000 und 15000.

Versuch IV.

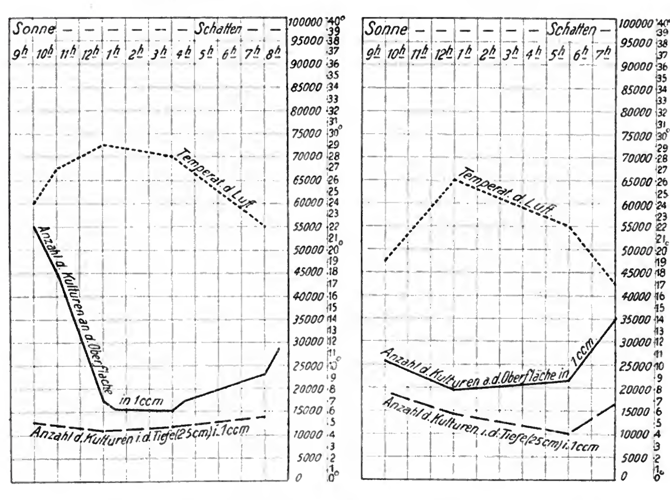
Im folgenden Versuch wurden im ganzen vier Untersuchungen vorgenommen, und zwar zwei in den Vormittags- und zwei in den Nachmittags stunden. Hierbei wurden jedesmal sowohl Proben der Oberfläche wie auch der Tiefe entnommen.

Tabelle IV, den 11. September 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
9	19	18	18	25 723	18 900	1 : 1,4	Sonne
12	26	18,25	18	19 368	14 800	1 : 1,3	»
5	22	19,5	18,75	21 506	10 800	1 : 2,0	Schatten
7	17	18	19,25	35 422	16 400	1 : 2,2	»

Versuch vom 2. September 1907. Kurve III.

Versuch vom 11. September 1907. Kurve IV.



Die Anzahl der Bakterien an der Oberfläche nimmt von 9 Uhr morgens bis 12 Uhr langsam ab. Von 12 bis 5 Uhr sehen wir eine geringe Vermehrung der Bakterien, die von 5 bis 7 Uhr eine beträchtliche Höhe erreicht. Die gestrichelte Kurve fällt bis 5 Uhr und steigt bis 7 Uhr langsam wieder an.

Bevor ich zur Besprechung der bis jetzt angeführten Versuche übergehe, will ich die übrigen Tabellen und Kurven folgen lassen, die die Ergebnisse von Tagen darstellen, an denen die Witterung unbeständig war und trübes Wetter abwechselnd mit Sonnenlicht auf die Bakterien seinen Einflufs ausübte.

Gruppe II.

Versuch V.

Witterung: Bis 10 Uhr mäfsiger Wind und leicht bewölkter Himmel, von da ab den ganzen Tag klarer Himmel.

Das Wasser ist um $8\frac{1}{2}$ Uhr, 2 Uhr und 6 Uhr sowohl an der Oberfläche wie in einer Tiefe von 25 cm untersucht worden.

Tabelle V, den 19. Juli 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
$8\frac{1}{2}$	19	17	18	50 600	11 550	1 : 4,4	bew. W.
2	32,5	18,5	18	17 700	6 900	1 : 2,6	Sonne
6	21	18	18	22 850	15 850	1 : 1,4	Schatten

Die ausgezogene Kurve (S. 161) fällt von $8\frac{1}{2}$ bis 2 Uhr recht schnell ab und steigt wieder bis 6 Uhr mäfsig an. Denselben Verlauf zeigt auch die gestrichelte Kurve, nur mit dem Unterschiede, dafs bei ihr der Anstieg steiler ist als der Abfall.

Versuch VI.

Witterung: Der Himmel war bis 10 Uhr bewölkt. Dann klärte sich das Wetter vollkommen auf und blieb bis zum Abend klar. Um 4 Uhr stellte sich mäfsiger Wind ein.

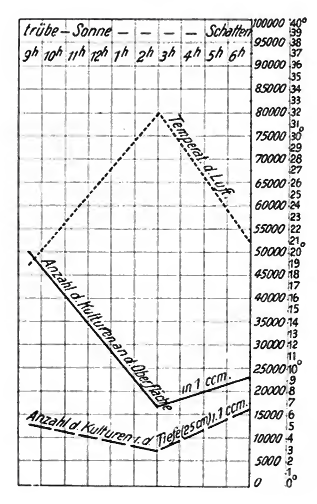
Das Wasser wurde um 9 Uhr, $12\frac{1}{2}$ Uhr, 5 Uhr und 7 Uhr untersucht.

Tabelle VI, den 9. September 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
9	18	18	18	41 748	15 250	1 : 2,7	trüb
12	26	18,25	18	15 603	9 800	1 : 1,6	Sonne
5	24	19	18,75	20 663	12 300	1 : 1,7	» W.
7	21	19	19	28 675	13 050	1 : 2,2	» »

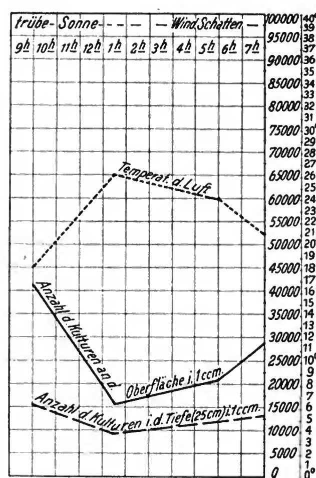
Versuch vom 19. Juli 1907.

Kurve V.



Versuch vom 9. September 1907.

Kurve VI.



Starker Abfall der ausgezogenen Kurve bis 12½ Uhr, dann langsamer Anstieg bis 5 Uhr, der von da ab bis 7 Uhr steiler wird. Die gestrichelte Kurve weist zuerst bis 12½ Uhr einen mäfsigen Fall, von 12½ Uhr ab einen geringen und ganz gleichmäfsigen Anstieg auf.

Versuch VII.

Witterung: Bis 11 Uhr bewölkter Himmel, dann den ganzen Tag klares Wetter.

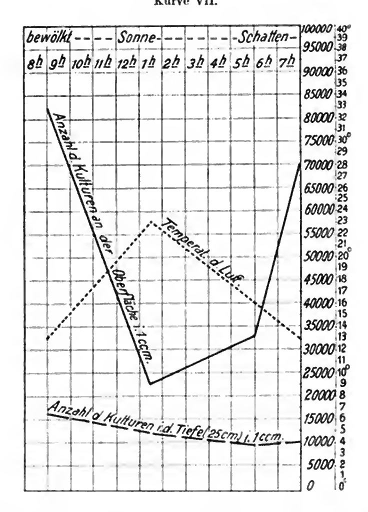
Die Wasserproben wurden von der Oberfläche und der Tiefe um 8 Uhr, 12½ Uhr, 5 Uhr und 7 Uhr entnommen.

Tabelle VII, den 16. September 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
8	13	16	16,5	82 218	16 350	1 : 5	bewölkt
$12^1/_2$	23	17	17	22 350	12 300	1 : 1,8	Sonne
5	16	17	17	33 314	9 150	1 : 3,6	Schatten
7	13	16,5	17	69 571	10 050	1 : 6,9	»

Versuch vom 16. September.

Kurve VII.



Die Keimzahl an der Oberfläche nimmt bis Mittag sehr stark ab, bis 5 Uhr wieder ziemlich schnell zu. Von 5 Uhr bis 7 Uhr findet eine enorme Vermehrung der Bakterien statt. Die Anzahl der Bakterien in der Tiefe sinkt während des ganzen Tages von 16000 auf 10000 herab.

Versuch VIII.

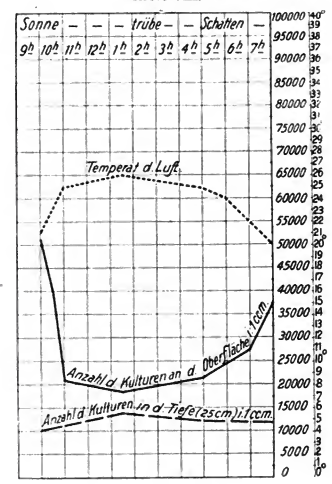
Witterung: Sonne bis 11 Uhr, dann den ganzen Tag leicht bewölkter Himmel.

Während dieses Versuchstages wurden 8 Proben von der Oberfläche und 4 Proben aus der Tiefe genommen.

Tabelle VIII, den 28. August 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser Oberfl.	Wasser Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
9	21	18	18	51 868	10 100	1 : 5,1	Sonne
$9^1/_2$	23	18	—	41 748	—	—	»
10	25	18,25	—	21 084	—	—	»
$12^1/_2$	26	18,5	18,5	18 554	13 900	1 : 1,4	bewölkt
4	25	19	18,5	21 506	12 700	1 : 1,7	»
$4^1/_2$	25	19	—	17 709	—	—	»
5	24	18,5	—	28 675	—	—	»
7	20	18	18	37 109	11 750	1 : 3,4	»

Versuch vom 28. August 1907.
Kurve VIII.



Die ausgezogene Kurve zeigt in den Vormittagsstunden einen sehr steilen Abfall. Mittags sinkt die Zahl der Bakterien nur noch wenig. In den Nachmittagsstunden sehen wir einen langsamen Anstieg, der in den späteren Stunden noch stärker wird. Die Anzahl der Bakterien in der Tiefe nimmt bis 12½ Uhr langsam zu und vermindert sich am Nachmittage wieder allmählich.

Versuch IX.

Witterung: Von 8 Uhr morgens bis 5 Uhr Sonne, von da ab leicht bewölkter Himmel.

Die Wasserproben wurden von der Oberfläche und aus der Tiefe um 8 Uhr, 12½ Uhr, 5 Uhr und 7 Uhr genommen.

Tabelle IX, den 12. September 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser Oberfl.	Wasser Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
8	17	19	18	61 566	20 500	1 : 3,0	Sonne
12½	25	18	18	39 000	12 100	1 : 3,2	»
5	21	18,5	18	21 928	11 750	1 : 1,9	bewölkt
7	19	18	18	34 680	14 900	1 : 2,4	

Die ausgezogene Kurve sinkt andauernd bis 5 Uhr und steigt bis 7 Uhr rapide an. Die gestrichelte Kurve zeigt einen ganz ähnlichen, nur viel weniger ausgesprochenen Verlauf.

Versuch X.

Witterung: Sonne bis 4 Uhr, dann leicht bewölkt.

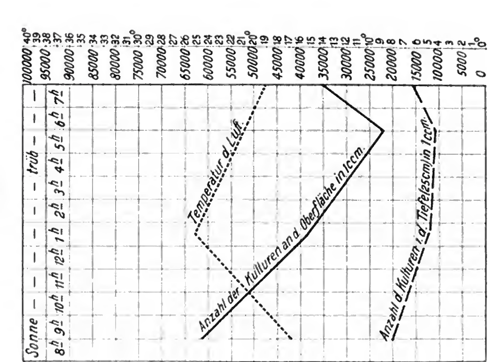
Die Wasserproben wurden der Oberfläche und Tiefe um 8 Uhr, 12½ Uhr, 5 Uhr und 7 Uhr entnommen.

Tabelle X, den 13. September 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser Oberfl.	Wasser Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
8	20	17,5	18	59 880	21 700	1 : 2,8	Sonne
12½	32	19	18,5	18 133	7 850	1 : 2,3	
5	22	19	18,5	17 711	12 300	1 : 1,4	bewölkt
7	19	19	18,5	35 422	20 600	1 : 1,7	

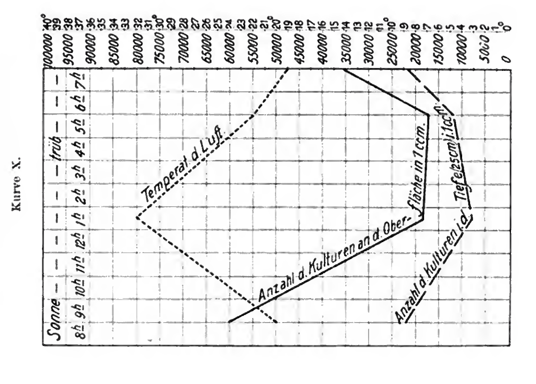
Versuch vom 12. September 1907.

Kurve IX.



Versuch vom 13. September 1907.

Kurve X.



Die ausgezogene Kurve fällt bis $12^1/_2$ Uhr recht steil ab, verläuft bis 5 Uhr beinahe horizontal und steigt dann wieder bis 7 Uhr sehr stark an. Die gestrichelte Kurve fällt ebenfalls ziemlich steil bis $12^1/_2$ Uhr, um dann zuerst langsam und von 5 Uhr ab schneller anzusteigen.

Versuch XI.

Witterung: Klarer Himmel bis 11 Uhr, dann leicht bewölkter Himmel. Um 7 Uhr war es bereits dunkel.

Während dieses Versuchstages wurde das Wasser um 8 Uhr, 1 Uhr, 5 Uhr und 7 Uhr an der Oberfläche und in der Tiefe untersucht.

Tabelle XI, den 17. September 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
8	12	15	15	80 964	18 500	1 : 4,3	klar
1	17	16	15,5	25 723	9 650	1 : 2,7	trüb
5	18	16	16	46 386	14 000	1 : 3,3	»
7	15	16	16	56 505	17 400	1 : 3,2	dunkel

Die ausgezogene Kurve zeigt von 8 bis 1 Uhr eine starke Verminderung und dann bis 7 Uhr wieder eine grofse Vermehrung der Bakterien an der Oberfläche. Die Anzahl der Bakterien in der Tiefe nimmt bis 1 Uhr langsam ab und wächst dann ständig wieder an.

Versuch XII.

Witterung: Wind. Den ganzen Tag klarer Himmel. Um 7 Uhr schon starke Dämmerung.

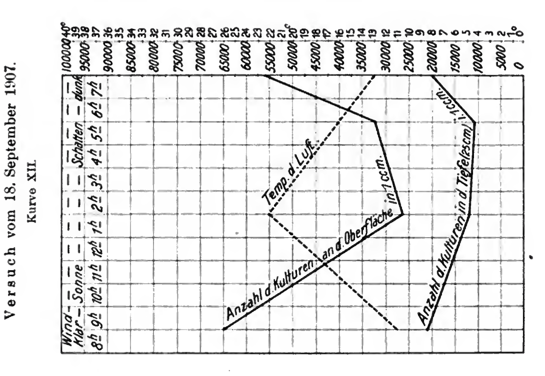
Um 8 Uhr, 1 Uhr, 5 Uhr und 7 Uhr wurde das Wasser an der Oberfläche und in der Tiefe untersucht.

Tabelle XII, den 18. September 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
8	11	15	15	64 940	21 000	1 : 3,0	klar W.
1	22	15	15	26 144	12 050	1 : 2,1	» »
5	16	15	15	32 470	11 400	1 : 2,8	» »
7	13	15	15	56 084	19 400	1 : 2,8	dunk. »

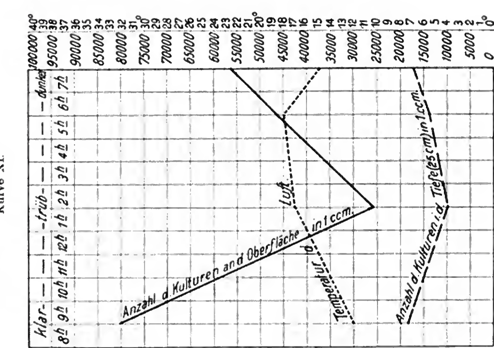
Versuch vom 18. September 1907.

Kurve XII.



Versuch vom 17. September 1907.

Kurve XI.



Von 8 bis 1 Uhr starke Abnahme der Bakterien an der Oberfläche, bis 5 Uhr deutliche Vermehrung, die bis 7 Uhr eine sehr beträchtliche Höhe erreicht. Die Keimzahl der Bakterien in der Tiefe nimmt bis 5 Uhr ständig ab und wächst bis 7 Uhr wieder bedeutend an.

Versuch XIII.

Witterung: Geringer Wind. Bis 10 Uhr bewölkter, dann andauernd klarer Himmel. Um 5 Uhr starker Wind, der bis 7 Uhr wieder ganz nachgelassen hat.

Das Wasser wurde an der Oberfläche und in der Tiefe um 9 Uhr, 12 Uhr und 7 Uhr untersucht.

Tabelle XIII, den 17. Juli 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
9	20	17,5	16	25 350	3 800	1 : 6,6	trüb
12	32	18	17,5	16 150	4 300	1 : 3,7	klar
5	23	18	17,5	40 500	4 950	1 : 8	» W.
7	20	17,5	17,5	33 050	9 050	1 : 3,6	» »

Die ausgezogene Kurve fällt langsam von 9 bis 12 Uhr, um 5 Uhr zeigt sie einen plötzlichen Anstieg und bis 7 Uhr wieder einen mäßigen Abfall. Die gestrichelte Kurve steigt leicht an.

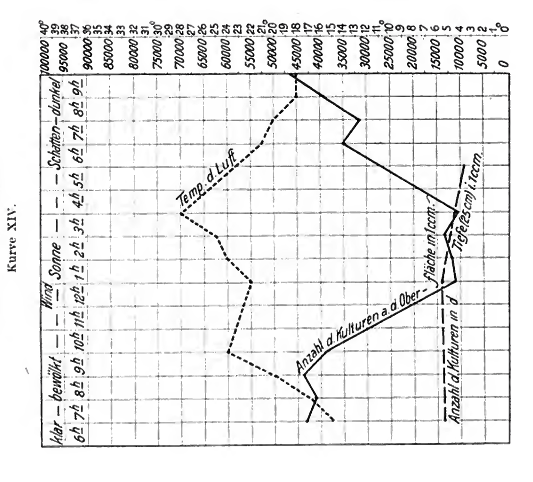
Versuch XIV.

Witterung: Von 6 Uhr morgens bis 7 Uhr klar. Von 8 bis 1 Uhr bewölkter, von 1 bis 9 Uhr abends wieder klarer Himmel.

An diesem Versuchstage wurden die Proben von der Oberfläche von 6 bis 9 Uhr, von 12 bis 3 Uhr und 6 bis 9 Uhr abends stündlich entnommen, während das Wasser aus der Tiefe nur um 6 Uhr morgens, 12 Uhr und 6 Uhr nachmittags untersucht wurde.

Versuch vom 30. August 1907.

Kurve XIV.



Versuch vom 17. Juli 1907.

Kurve XIII.

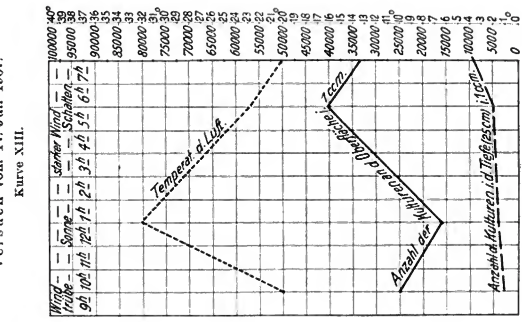


Tabelle XIV, den 30. August 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser Oberfl.	Wasser Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
6	15	18,25	18,25	43 434	13 000	1 : 3,3	klar
7	17	18,5	—	42 590	—	—	»
8	20	18,25	—	43 012	—	—	bewölkt
9	24	18,5	—	39 217	—	—	»
12	22	19	18,75	11 635	13 500	1 : 0,8	» W.
1	24	19	—	11 805	—	—	klar
2	25	19	—	13 494	—	—	»
3	28	19	—	11 805	—	—	
6	21	19	19	35 738	9 700	1 : 4	
7	20	19	—	32 048	—	—	»
8	18	18,5	—	39 518	—	—	
9	18	18,5	—	46 386	—	—	

Bei diesem Versuch können wir von 6 Uhr morgens bis 8 Uhr keine Abnahme der Bakterien feststellen; dann sinkt die Kurve steil bis 12 Uhr herab und verbleibt bis 4 Uhr auf dieser Höhe. Von 4 Uhr bis 9 Uhr steigt sie wieder schnell empor. Die gestrichelte Kurve zeigt einen ganz geringen Anstieg bis 12 Uhr, von da bis 6 Uhr wieder ein langsames Absinken.

Was zeigen uns die angeführten Versuche, und welche Schlufsfolgerungen sind wir berechtigt aus ihnen zu ziehen?

1. Bei allen Versuchen finden wir, dafs die Anzahl der Bakterien an der Oberfläche eine weit gröfsere ist als die in der Tiefe.
2. Die Zahl der Bakterien ist sehr grofsen Schwankungen unterworfen. In den Morgenstunden halten sich die Bakterien in sehr grofsen Mengen an der Oberfläche auf, Mittags ist ihre Zahl an der Oberfläche stark vermindert und wächst gegen Abend wieder beträchtlich an.
3. Von den Bakterien in einer Tiefe von 25 cm kann man im allgemeinen sagen, dafs sie im Vergleich zu den Bakterien an der Oberfläche im Laufe eines Tages nur ganz geringe

Veränderungen ihrer Zahl aufweisen. Die Kurve der Bakterien in der Tiefe zeigt fast bei allen Versuchen einen analogen Verlauf, wie die an der Oberfläche, mit dem Unterschiede, dafs sie viel flacher erscheinen.

4. Hieraus ergibt es sich nun von selbst, dafs die Keimzahl der Bakterien an der Oberfläche und die Bakterienanzahl in der Tiefe keinen konstanten Unterschied zeigen können, dieser vielmehr entsprechend der Tageszeit bald gröfser, bald kleiner sein mufs.
5. Die Temperaturkurve nimmt einen entgegengesetzten Verlauf, wie die ausgezogene Kurve, ja bei einzelnen Versuchen wie z. B. bei Versuch III, IV, V, VI und VIII ist die Temperaturkurve geradezu das Spiegelbild der ausgezogenen Kurve.

Da die Temperatur der Luft nicht im Schatten, sondern in der Sonne bestimmt wurde, so können wir sie als ein gewisses Mafs der Intensität der Sonnenstrahlung annehmen. Daraus können wir folgende Schlufsfolgerung ziehen:

»Umgekehrt proportional der Zunahme und Abnahme der Intensität des Sonnen- resp. Tageslichtes verändert sich die Zahl der Bakterien an der Oberfläche eines Gewässers.«

Wie schon oben erwähnt, ist die Bakterienmenge an der Oberfläche in den Morgenstunden viel gröfser, als die in den Mittagstunden. Mit Ausnahme von Versuch I und II sieht man, dafs die Keimzahl der Bakterien gegen Abend wieder zunimmt. Diese Beobachtung liefs die Frage aufkommen, zu welcher Tages- oder Nachtzeit die Anzahl der Bakterien an der Oberfläche ihre höchste Höhe erreicht.

Um diese Frage beantworten zu können, habe ich einen Versuch über 24 Stunden ausgedehnt.

Versuch XV.

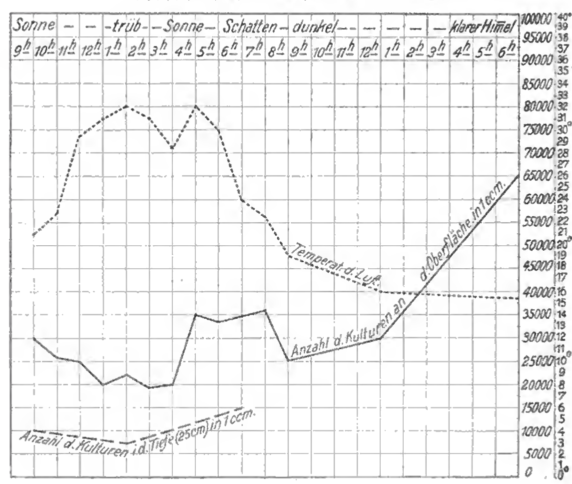
Witterung: Bis 1 Uhr klarer Himmel. Von 1 Uhr bis 4 Uhr bald Sonnenschein, bald bewölkter Himmel, von da ab und während der ganzen Nacht klarer Himmel. Um 6 Uhr morgens starker Nebel.

Die Wasserproben wurden bei diesem Versuch von 9—11 Uhr stündlich, von 11—4 Uhr halbstündlich, von 4—8 Uhr wieder stündlich, und von da ab bis 6 Uhr morgens alle 3 Stunden entnommen.

Tabelle XV, den 3. und 4. August 1907.

Zeit	Temperatur			Anzahl der Keime in 1 ccm		Verhält. d. Bakt. i. d. Tiefe zu denen a. d. Oberfläche	Wetter
	Luft	Wasser					
		Oberfl.	Tiefe	Oberfl.	Tiefe		
h	°	°	°				
8	21	17,25	17	30 100	9350	1 : 3,2	Sonne
10	23	17,5	—	26 150	—	—	»
11	29,5	18	—	25 400	—	—	»
11½	29,5	18	—	22 550	—	—	»
12	30	18,5	—	20 400	—	—	»
12½	32	18,5	—	17 950	—	—	»
1	32	18,5	18	22 250	7500	1 : 2,9	trüb
1½	30	18,75	—	15 800	—	—	»
2	31	18,75	—	19 700	—	—	Sonne
3	28,5	19	—	20 700	—	—	trüb
3½	27	19	—	33 700	—	—	»
4	32	19,5	—	39 750	—	—	Sonne
5	30	19,5	—	33 400	—	—	»
6	28	19,5	18,5	26 550	15 700	1 : 1,7	klar
7	22,5	19	—	35 900	—	—	»
8	19	18,5	—	25 150	—	—	»
12	16	18,5	—	29 700	—	—	»
6	15,5	17,5	—	65 150	—	—	Nebel

Versuch vom 3. u. 4. Juli 1907. Kurve XV.



Der Versuch zeigt, dafs die Zahl der Bakterien an der Oberfläche von morgens ab sinkt und in den Mittagstunden das Minimum aufweist, dann wieder ständig zunimmt und in den Morgenstunden das Maximum wieder erreicht. Ähnliche Ergebnisse teilt auch Buchner[1]) bei seinen Versuchen in der Isar mit.

Zwei Ursachen kommen wesentlich für diese Erscheinung in Betracht:

1. Mit dem Eintritt der Dunkelheit fällt der schädliche Einflufs des Lichtes auf die Bakterien fort[2]), so dafs sie sich wieder vermehren können.
2. Das Sauerstoffbedürfnis läfst die Bakterien, die von dem Sonnenlicht in tiefere Wasserschichten gewandert sind, wieder an die Oberfläche steigen.

Nehmen wir an, dafs das Bedürfnis nach Sauerstoff die Bakterien an die Oberfläche treibt, so haben wir damit auch zugleich eine Erklärung dafür gegeben, warum die Bakterien an der Oberfläche sich in gröfseren Mengen aufhalten, als in den tieferen Wasserschichten der Fall ist.

Natürlich spielen noch andere Faktoren dabei eine nicht zu unterschätzende Rolle. So sind z. B. die oberflächlichsten Wasserschichten Verunreinigungen, wie Staub usw., viel mehr ausgesetzt als die tieferen.

Um nun festzustellen, in welcher Weise die Abnahme der Bakterien von der Oberfläche in die Tiefe zu vor sich geht, habe ich auf Anraten von Professor Forster das Wasser schichtweise untersucht. Hierzu ging ich folgendermafsen vor: Ich nahm 18 Kapillarpipetten, von denen jede mit einer Marke versehen wurde. Die Marke wurde bei je 3 Pipetten 0,5 cm, 1 cm, 2 cm, 3 cm, 5 cm und 10 cm von der Kapillaröffnung entfernt, angebracht. Auf diese Weise hatte ich 3 Sätze von Kapillaren hergestellt, so dafs ich auch das Wasser zu drei verschiedenen Stunden im Laufe des Tages untersuchen konnte. Die Tropfen-

1) Buchner, Einflufs des Lichtes auf Bakterien und Selbstreinigung der Flüsse. Arch. f. Hyg., Bd. XVII, S. 200.

2) Buchner, Arch. f. Hyg., Bd. XVII.

gröfse einer jeden Kapillare wurde durch Wägung festgestellt, um später alle Versuche auf eine Einheit berechnen zu können. Die fertigen Kapillaren wurden wie gewöhnliche Pipetten in Reagensgläsern sterilisiert und verblieben in dieser Verpackung bis zum Versuch. Bei Entnahme des Wassers wurden die Kapillaren, die an ihrem oberen Ende einen verschlossenen Gummischlauch trugen, bis zu der Marke ins Wasser getaucht. Der Verschlufs am Schlauch wurde gelüftet und das Wasser in die Kapillare langsam aufgesaugt. Die Kapillaren wurden dann aufsen mit sterilem Fliefspapier abgetrocknet, damit eine Mischung mit Wasser aus oberen Schichten vermieden würde. Von jeder Kapillare wurde ein Tropfen in einer Petrischen Schale in der üblichen Weise verarbeitet. Die Ergebnisse sind folgende:

Versuch XVI, den 27. August 1907.

Zeit	Tiefen	Entnommene Mengen	Anzahl der Keime in 1 ccm
6 h	0,0 cm	20 mg	69 040
»	0,5 »	27 »	20 000
»	1,0 »	29 »	16 310
»	2,0 »	47 »	15 404
»	3,0 »	40 »	16 911
»	5,0 »	25 »	15 200
»	10,0 »	40 »	13 925
»	25,0 »	20 »	21 400
12 h	0,0 »	20 »	30 783
»	0,5 »	31 »	11 516
»	1,0 »	18 »	15 021
»	2,0 »	24 »	15 708
»	3,0 »	20 »	8 450
»	5,0 »	24 »	17 500
»	10,0 »	32 »	23 969
»	25,0 »	20 »	8 150
6 h	0,0 »	20 »	18 976
»	0,5 »	19 »	10 895
»	1,0 »	13 »	12 476
»	2,0 »	25 »	6 320
»	3,0 »	26 »	7 308
»	5,0 »	17 »	11 647
»	10,0 »	19 »	14 105
»	25,0 »	20 »	15 300

Versuch XVII, den 30. August 1907.

Zeit	Tiefen	Entnommene Mengen	Anzahl der Keime in 1 ccm
6 h	0,0 cm	20 mg	43 434
»	0,5 »	27 »	23 778
»	1,0 »	29 »	21 655
»	2,0 »	47 »	13 500
»	3,0 »	40 »	14 675
»	5,0 »	25 »	14 920
»	10,0 »	40 »	10 350
»	25,0 »	20 »	13 000
12 h	0,0 »	20 »	11 635
»	0,5 »	31 »	9 645
»	1,0 »	18 »	9 722
»	2,0 »	24 »	14 130
»	3,0 »	20 »	8 250
»	5,0 »	24 »	6 583
»	10,0 »	32 »	11 063
»	25,0 »	20 »	13 500
6 h	0,0 »	20 »	35 738
»	0,5 »	19 »	19 263
»	1,0 »	13 »	22 647
»	2,0 »	25 »	12 800
»	3,0 »	26 »	12 924
»	5,0 »	17 »	22 470
»	10,0 »	19 »	18 158
»	25,0 »	20 »	9 700

Aus den beiden Versuchen kann man ersehen, dafs schon in den oberflächlichsten Schichten ein rapider Abfall der Bakterienzahl erfolgt, und dafs bereits in einer Tiefe von 0,5 cm nahezu die gleiche Anzahl der Bakterien, wie in einer Tiefe von 25 cm sich ergibt. Dieses Resultat, das nur in den oberflächlichsten, d. h. den in unmittelbarer Berührung mit dem Sauerstoff der Luft stehenden Schichten die Anhäufung der Bakterien stattfinden, bestätigt meine vorher erwähnte Annahme, dafs es lediglich das Sauerstoffbedürfnis ist, das die Bakterien an die Oberfläche lockt.

Welchen Einflufs übt das Licht auf die Bakterien im fliefsenden Wasser aus?

Das Bestehen eines schädigenden und tötenden Einflusses von seiten des Lichtes auf die Bakterien wurde zuerst durch

die Engländer Downes und Blunt[1]) im Jahre 1877 erwiesen. Mit dieser Frage haben sich seither viele Forscher beschäftigt und in zahlreichen Untersuchungen die Angaben von Downes und Blunt bestätigt. Da vor kurzem in der Arbeit von Wiesner[2]) eine vollständige Zusammenstellung der diese Frage betreffenden Literatur gegeben ist, will ich mich darauf beschränken, nur die Arbeiten zu erwähnen, die in direkter Beziehung zu meinen Untersuchungen stehen. Im wesentlichen stimmen alle Forscher damit überein, dafs sowohl das diffuse Tageslicht als auch speziell das Sonnenlicht eine starke bakterizide Kraft besitzen und imstande sind, Bakterien nach einer bestimmten Zeit abzutöten oder wenigstens ihre Virulenz und ihre Entwicklungsfähigkeit im hohen Mafse herabzusetzen. Auf Grund seiner Beobachtungen erklärt Buchner[3]) die »Sonnendesinfektion« als einen wichtigen Faktor bei der Selbstreinigung der Flüsse, ja, er schätzt die bakterizide Kraft des Lichtes so hoch ein, dafs er dessen Verwendung zur Desinfektion von Abwässern vorschlägt. Raspe[4]) kommt zu dem Schlufs: Das Sonnenlicht vermag, je nach der Dauer der Bestrahlung, die Bakterien des Wassers abzutöten oder wenigstens die Entwicklungsfähigkeit der in ihm enthaltenen Bakterien herabzusetzen.

Auch auf Grund meiner Versuche mufs ich den Einflufs des Lichtes auf die Bakterien im Wasser entschieden bejahen. Ob aber das Sonnenlicht eine desinfizierende Wirkung auf das Wasser ausübt, d. h. eine Abtötung der Bakterien oder eine Abschwächung der Entwicklungsfähigkeit derselben bewirkt, oder die tatsächliche Verminderung der Anzahl der Bakterien im Laufe des Tages aus anderen Gründen vor sich geht, bedarf noch einer ausführlicheren Besprechung.

Oben habe ich gezeigt, dafs das Sauerstoffbedürfnis die Bakterien in grofsen Mengen an die Oberfläche steigen läfst,

1) Downes u. Blunt, Proceedings of the Royal Society of London. Bd. 26, S. 488.

2) Wiesner, Arch. f. Hyg., Bd. 61.

3) Buchner, Arch. f. Hyg., Bd. 17, und Zentralbl. f. Bakt., Bd. 11, 1892.

4) Raspe, Über den Einflufs des Lichtes auf Mikroben. Dissertation. Schwerin 1891.

trotzdem findet man in den Mittagstunden im Vergleich zu den Morgen- und Abendstunden an der Oberfläche nur ganz geringe Mengen von Bakterien. Da nachgewiesenermafsen das Sonnenlicht erst nach längerer Bestrahlung eine bakterizide Kraft ausübt, dürfte man bei der steten Wanderung neuer Bakterien an die Oberfläche keine Verminderung der Bakterienzahl nachweisen können. Bei allen oben angeführten Versuchen findet man jedoch eine starke Abnahme der Bakterien an der Oberfläche.

Diese Beobachtung hat mich veranlafst, nach einer anderen Ursache für die Abnahme der Bakterien zu suchen als die Abtötung. Ich denke an die weite Verbreitung des Heliotropismus, den wir sowohl in der Pflanzenwelt als auch in der Tierwelt oft beobachten können. Strafsburger[1]) hat durch seine Versuche an Schwärmsporen von verschiedenen chlorophyllhaltigen Algen, deren Verhalten er gegenüber dem einfallenden Licht in hängendem Tropfen beobachtete, auch einen »negativen Heliotropismus« nachgewiesen. Als Typus hat er das Verhalten der Ulothrixschwärmer angegeben. Im diffussen Tageslicht von einer geringen Intensität eilen die kleinen Geifselzellen in geraden Bahnen nach dem Rande des Tropfens, welcher dem Lichte zugekehrt ist, und sammeln sich hier in grofsen Scharen an. Steigert man die Intensität des Lichtes, so beginnen von einem bestimmten Helligkeitsgrade an die Schwärmsporen den »positiven Tropfenrand« d. h. den Rand, welcher der Lichtquelle zugekehrt ist, zu verlassen und sich nach dem »negativen Tropfenrand«, d. h. dem gegenüberliegenden, zu begeben, bis bei weiter gesteigerter Lichtintensität alle am »negativen Tropfenrand« versammelt sind. Ganz ähnliche Beobachtungen teilt auch Stahl[2]) mit. Stahl untersuchte die von Hofmeister und Baranetzky beobachtete Phototaxis der Myxomyzeten-Plasmodien und fand, dafs junge Plasmodien von Aethalium septicum im Halbdunkel an die Oberfläche der Gerberlohe

1) Strafsburger, Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwärmsporen. Jenaische Zeitschr. f. Naturwissensch., Bd. 12.

2) Stahl, a. a. O. bei Verworn »allgemeine Physiologie«.

kommen, bei stärkerer Lichtintensität dagegen sich in die tieferen Schichten des Lohehaufens verkriechen.

Einen negativen Heliotropismus oder eine »Photophobie« glaube auch ich als Ursache für die starke Abnahme der Bakterien an der Oberfläche annehmen zu dürfen. Für diese Annahme sprechen verschiedene Tatsachen, für die ich sonst keine andere Erklärung finden könnte.

Betrachten wir nochmals die ausgezogenen Kurven. Man sieht, dafs die schnellste Abnahme der Bakterien in den ersten Morgenstunden vor sich geht und in der Mittagszeit nur noch eine geringe Verminderung der Bakterienzahl stattfindet. Die Intensität der Sonne ist aber in den ersten Stunden lange nicht so grofs wie um die Mittagszeit. Wenn bei diesem Vorgange die bakterizide Kraft der Sonnenstrahlen die Hauptrolle spielen sollte, so müfste die Kurve erst ganz langsam sinken und in den Mittagstunden steil abfallen. Da aber die gröfste Verminderung in eine Zeit fällt, in der die bakterizide Kraft des Lichtes noch nicht ihre höchste Höhe erreicht hat, kann man sie auch nicht als die Hauptursache dieser Erscheinung bezeichnen.

Raspe u. a. sind zu der Ansicht gekommen, dafs die bakterizide Kraft des Lichtes die Bakterien entweder vollständig vernichtet oder ihre Entwicklungsfähigkeit wenigstens in hohem Mafse verzögert. Wie sollte man sich jetzt das plötzliche Steigen der Bakterienzahl in den Abendstunden erklären, wo ihre Fähigkeit sich zu vermehren ganz oder teilweise vernichtet ist. Da das Bedürfnis nach Sauerstoff dasselbe geblieben, die Lichtintensität dagegen in den Abendstunden stark vermindert ist, so überwiegt das Sauerstoffbedürfnis den schädlichen Einflufs des Lichtes, der die Bakterien in die Tiefe flüchten liefs, und läfst sie wieder in grofsen Scharen an die Oberfläche steigen. Aus diesem Grunde erreicht auch die Bakterienzahl an der Oberfläche während der Nacht und bei der Morgendämmerung ihr Maximum.

Man könnte nun glauben, dafs, wenn die Bakterien nicht abgetötet werden, sondern blofs in die Tiefe wandern, sich ihre

Menge in der Tiefe vergröſsern müſste. Das habe ich aber bei meinen Versuchen nicht beobachten können. Eine einfache Überlegung zeigt aber, daſs dies nicht der Fall zu sein braucht. Denn das Plus der Bakterien an der Oberfläche besteht, wie ich gezeigt habe, nur in einer ganz dünnen Schicht an der Oberfläche, da bereits in 5 mm Tiefe die durchschnittliche Tiefenzahl der Bakterien erreicht wird. Dieses Plus aber kann sich nun auf eine viel hundertfach dickere Wasserschicht verteilen, und es ist daher begreiflich, daſs eine nachweisbare Vermehrung bei den von mir beobachteten Zahlen der Bakterien in der Tiefe dadurch nicht bedingt wird.

Eine Bestätigung für meine Ansicht finde ich in der Arbeit von Wolf und Thiele.[1]) Bei ihren Versuchen wurden alle Nebenwirkungen des Lichtes, insbesondere seine Wärmewirkung ausgeschlossen. Die für die Bakterien schädlichen Lichtstrahlen wurden von den ihnen nicht schädlichen getrennt, indem verschieden lichtdurchlässiges Material zwischen Lichtquelle und Versuchsobjekt eingeschaltet wurde. Bei diesen genauen Versuchen haben Wolf und Thiele feststellen können, daſs Bakterien bei 14—20° C durch ultraviolette Strahlen (265—300 $\mu\mu$ Wellenlänge) sehr schnell abgetötet werden, daſs Strahlen dagegen von einer gröſseren Wellenlänge als 300 $\mu\mu$ selbst nach 24stündiger Einwirkung auf die Bakterien bei derselben Temperatur, sie nicht zu töten vermögen. Ferner haben sie festgestellt, daſs bei höherer Temperatur, 29—40° C, auch die Strahlen von groſsen Wellenlängen, ja selbst Strahlen des sichtbaren Teiles des Spektrums imstande sind, Bakterien abzutöten. Da bei unserem Klima das Wasser in den Flüssen und Seen nur ganz ausnahmsweise eine Temperaturhöhe von 25° und darüber erreicht und unser Sonnenlicht arm an ultravioletten Strahlen ist, kommen sie zu dem Schluſs, daſs das Sonnenlicht auf die Selbstreinigung der Flüsse keinen Einfluſs hat und es als Desinfektionsmittel für Abwässer nicht tauglich ist.

Wolf u. Thiele, Arch. f. Hyg., Bd. 57, und Deutsche med. Wochenschrift 1906.

Wenn Buchner und Raspe zu andern Schlufsfolgerungen gelangt sind, so liegt der Grund darin, dafs sie das Wasser in Gefäfsen untersuchten, und somit auch erstens den Bakterien die Möglichkeit einer Flucht vor den schädlichen Einflufs des Lichtes genommen haben, und zweitens bei höheren Temperaturen gearbeitet haben, als sie bei fliefsenden Gewässern vorkommen.

Fasse ich zum Schlufs meiner Arbeit nochmals das Ergebnis meiner Untersuchungen zusammen, so kann ich folgende Sätze aufstellen:

1. Die Bakterienmenge an der Oberfläche eines Flusses wird in der Regel in hohem Mafse von der Strömung beeinflufst, und zwar steht die Bakterienmenge im umgekehrten Verhältnis zu der Stromgeschwindigkeit.
2. Die Anzahl der Bakterien an der Oberfläche fliefsender Gewässer ist gewöhnlich gröfser als die in der Tiefe.
3. Dieses Verhalten wird vermutlich bedingt durch das Sauerstoffbedürfnis der Bakterien.
4. Die Zahl der Bakterien an der Oberfläche ist im Gegensatze zu der in der Tiefe innerhalb kurzer Zeit sehr grofsen Schwankungen unterworfen.
5. Diese Schwankungen der Bakterienzahl an der Oberfläche stehen in gesetzmäfsiger Abhängigkeit von der Intensität des Lichtes, und zwar so, dafs mittags die Zahl am niedrigsten und nachts bis Sonnenaufgang am höchsten ist.
6. Der Einflufs des Lichtes besteht nicht in einer bakteriziden Kraft, sondern beruht auf einem negativen Heliotropismus, auf einer »Photophobie« der Bakterien.

Experimentelle Untersuchungen über biologische Beziehungen des Tuberkelbazillus zu einigen anderen säurefesten Mikroorganismen und Aktinomyzeten.

Entwicklungshemmung, Agglutination, Komplementbindung, gegenseitige Immunisierung.

Von

Ernst Fritzsche, med. pract.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Abteilungsvorstand: Prof. Dr. W. Silberschmidt.)

Die Bakteriologie, welche sich als Zweigwissenschaft der Botanik zu einer selbständigen Disziplin entwickelt hat, übertrug zunächst auch die botanische, vorwiegend morphologische Betrachtungsweise auf ihr Spezialgebiet. Das eingehende Studium der pathogenen Mikroorganismen zeigte jedoch, dafs diese Betrachtungsweise nicht genügte. Vom medizinischen Standpunkt aus mufste die Virulenz der Bakterien in den Kreis der Untersuchungen einbezogen werden, deren Studium eine Menge biologischer Reaktionen nötig machte. Die Notwendigkeit biologischer Betrachtungsweise neben der morphologischen tritt besonders beim Studium der säurefesten Mikroorganismen hervor, da in diese Gruppe neben einer Reihe saprophytischer Arten einige pathogene Formen gehören, die für den Mediziner von höchstem Interesse sind.

Vom botanischen, speziell pflanzensystematischen Standpunkt aus beurteilt St. Rosenblat[1]) die Gruppe der säurefesten Mikroorganismen folgendermafsen:

Die »Säurefesten« konnten nur so lange für Bakterien gehalten werden, als man ihre charakteristischen Eigenschaften

noch nicht kannte. Früher sah man die Stäbchenform für die typische an, beobachtete nur selten Verzweigungen und glaubte, die Fortpflanzung durch Zweiteilung, wie sie charakteristisch für die Bakterien ist, sei die allein vorkommende. In neuerer Zeit hält man die Stäbchenform für eine Anpassungsform an die parasitäre Lebensweise, anerkennt die, seltener in Sputumpräparaten, häufig aber in älteren, noch entwicklungsfähigen Kulturen vorkommenden Verzweigungen als echte. Die meisten Forscher nehmen also echte Myzelbildung an. Die Fortpflanzungserscheinungen sind bei den »Säurefesten« entschieden höher und komplizierter als bei den Bakterien; neben der Zweiteilung werden auch die Fragmentation, wie sie hauptsächlich bei den Aktinomyzeten vorkommt, ferner die Kolben- und Keulenbildung und schliefslich die Splitterung für Vermehrungsvorgänge gehalten. Auf Grund dieser Erkenntnisse (Bildung echter Myzelien, höher stehende Fortpflanzung) werden die Tuberkelbazillen von den Bakterien getrennt und wegen ihrer engen Verwandtschaft mit den Aktinomyzeten mit diesen zusammen in die Abteilung der Pilze verwiesen, nach Kral, Dubard u. a. vorläufig zu den Hyphomyzeten (Fadenpilzen). — Auch zu der Gruppe der Diphtheriebazillen bestehen nahe Beziehungen. Seit man auch bei diesen Verzweigungen entdeckt hat, wird ihre Bakteriennatur ebenfalls bestritten. Dieser Gruppe am nächsten steht von den »Säurefesten« der Smegmabazillus.

Die botanische Forschung ist noch nicht dazu gelangt, in der grofsen Gruppe der »Säurefesten« verschiedene »biologische Arten« aufzustellen, da die vorhandenen morphologischen und biologischen Unterschiede nur zur Annahme verschiedener Varietäten berechtigen. Die Virulenz kann als nicht konstantes Merkmal nicht zur Unterscheidung verschiedener Arten herbeigezogen werden.

Zu diesen Resultaten gelangte also die botanische Forschung.

Für die Verwandtschaft der Säurefesten unter sich und mit den Aktinomyzeten sprechen auch eine Reihe klinischer und experimenteller Erfahrungen, von denen wir folgende erwähnen wollen:

Einmal ergab die klinische Beobachtung, dafs Strahlenpilze Erkrankungen hervorrufen, welche oft schwer von gewissen Formen der Tuberkulose zu unterscheiden sind.

Billroth, v. Eiselsberg u. a. beobachteten bei Fällen von Aktinomykose beim Menschen positive Tuberkulinreaktionen. Zupnik[2]) berichtet über einen Fall von Bauchaktinomykose, der durch Tuberkulinbehandlung geheilt wurde. Ebenso interessant sind die Mitteilungen von Babes und Kalindero[3]), welche bei Lepra, deren Erreger ja auch zu den säurefesten Mikroorganismen gehört, ebenfalls positive Tuberkulinreaktionen fanden. — Ramond und Ravaut[4]) infizierten Tiere mit Fischtuberkelbazillen und erzielten mit dem alten Kochschen Tuberkulin Temperatursteigerungen. Umgekehrt reagierten mit menschlichen Tuberkelbazillen behandelte Tiere auf Injektionen eines aus Fischtuberkelbazillen hergestellten Tuberkulins mit Fieber. — Krompecher beobachtete, dafs Tuberkuline, welche aus virulenten Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft hergestellt waren, bei tuberkulösen Tieren übereinstimmende positive Tuberkulinreaktionen hervorriefen, während mit Tuberkulinen aus wenig virulenten Säurefesten nicht so übereinstimmende Resultate zu erzielen waren. — Lubarsch und Mayer fanden bei perlsüchtigen Rindern mit Kochschem Tuberkulin positive Reaktion.

Zupnik[5]) behandelte Tiere mit verschiedenen säurefesten Bazillen und Streptothrixarten und erhielt mehrfache Temperatursteigerungen mit Tuberculinum vetus Koch. Feistmantel[6]) konnte diese letztgenannten Versuche bestätigen; er stellte ein »Tuberkulin« aus Streptothrix farcinica (Actinomyces farcin) her und konnte damit Fieber erzeugen sowohl bei Tieren, die mit Streptothrix farcinica selbst infiziert waren, als auch bei tuberkulösen Meerschweinchen. Auf Grund seiner Untersuchungen kam F. zum Schlufs, dafs die Tuberkulinreaktion nicht nur eine Art-, sondern eine Gattungsreaktion sei und dafs eine enge Verwandtschaft zwischen Streptothrix farcinica und den Tuberkelbazillen bestehe.

Andere sehr zahlreiche Versuche, welche die Verwandtschaft der Säurefesten unter sich beweisen sollten, waren auf folgende

Überlegungen gegründet: Sollte es gelingen, mit wenig virulenten oder avirulenten Vertretern der Gruppe ein Tier gegen die virulenten Säurefesten zu immunisieren, so wäre ein neuer Beweis für die Verwandtschaft erbracht. Gleichzeitig mit dieser rein wissenschaftlichen Frage suchte man auf diesem Wege zu einer aussichtsreichen Tuberkulosetherapie zu gelangen, indem man durch Vorbehandlung mit unschädlichen Säurefesten vor Tuberkulose schützen oder sie heilen wollte. So beruhen die Behringschen Immunisierungsversuche auf der Annahme, dafs Menschen-, Rinder- und Geflügeltuberkelbazillen nur Varietäten einer und derselben Art seien und deshalb zur gegenseitigen Immunisierung verwendet werden können. Die Behringsche Immunisierung der Rinder gegen Perlsucht wird mit menschlichen Tuberkelbazillen vorgenommen. Baumgarten[31]) berichtet, dafs nicht nur intravenöse, sondern auch subkutane Injektion von menschlichen Tuberkelbazillen Rinder gegen Perlsuchtinfektion zu schützen vermöge. Mit dem Serum der Immuntiere lasse sich jedoch keine passive Immunität erzeugen. Therapeutische Seruminjektionen bei schon erkrankten Rindern schaden direkt. Klemperer hat bei Tieren durch Injektion von Pseudotuberkelbazillen eine »gewisse Immunität« erreicht. Neufeld[7]) behandelte Ziegen, Esel und Rinder intravenös mit lebenden Säugetiertuberkelbazillen mit dem Resultat, dafs nachher eine sicher tödliche Dosis virulenter Perlsuchtkultur gut ertragen wurde. N. betont, dafs man unbedingt lebende Kulturen zur Immunisierung verwenden müsse, indem man mit abgetöteten noch niemals etwas erreicht habe. Im Gegensatz dazu glaubt Koch[8]), es werde nie dazu kommen, dafs Menschen mit lebenden Kulturen von Warmblütertuberkelbazillen behandelt werden können. Er hält vielmehr eine mechanische Aufschliefsung abgetöteter Bazillen, wie sie bei seinen »zerriebenen Bazillen« vorliegt, für den Schlüssel aller Immunisierungsmethoden.

Moeller[9]) prüfte die verschiedensten Vertreter der Tuberkelbazillengruppe auf ihre immunisierende Wirkung. Ein Vergleich derselben ergab, dafs Timotheebazillen und der Grasbazillus II die schwächste immunisierende Kraft gegen virulente Tuberkelbazillen besitzen. Dann folgen in seiner Skala die Milch- und

Smegmabazillen, an dritter Stelle Blindschleichentuberkelbazillen, dann Mistbazillen und schliefslich, als am stärksten wirkend, die Pseudoperlsuchtbazillen. Moeller hält den Blindschleichentuberkelbazillus am geeignetsten für Immunisierungszwecke, da dessen Temperaturoptimum ein niedriges (22°—28° C) ist. Bazillen, deren Wachstum bei 37° C am üppigsten ist, hält er im Gegensatze zu andern Autoren, darunter besonders Friedmann[10]), für zu gefährlich.

Friedmann (l. c.) stellte mit seinen bei spontaner Lungentuberkulose von Schildkröten entdeckten Schildkrötentuberkelbazillen ausgedehnte Immunisierungsversuche an, indem er von der Ansicht ausging, dafs ein Vaccin möglichst ähnlich sein soll jenem Agens, gegen welches er Schutz verleihen soll. Diesen Anforderungen soll der Schildkrötentuberkelbazillus entsprechen; seine nahe Verwandtschaft mit Säugetiertuberkelbazillen beweist er durch die Ununterscheidbarkeit seiner Kulturen von jenen der letzteren, ferner durch sein gutes Wachstum bei 37°. Trotz dieser Ähnlichkeit erwies sich der Schildkrötentuberkelbazillus als sehr wenig pathogen, indem er bei allen Versuchstieren einen lokalisiert bleibenden tuberkulösen Prozefs erzeugt, der immer ausheilt. Immunisierte Meerschweinchen überstanden eine Infektion mit Säugetiertuberkelbazillen gut. Umgekehrt gelang es F., Schildkröten durch Injektion von Säugetiertuberkelbazillen (Perlsucht- und menschliche Tuberkelbazillen) gegen eine sicher tödliche Dosis Schildkrötentuberkelbazillen zu immunisieren. F. will »fast sicher« ein perlsüchtiges Rind durch Injektion von Schildkrötentuberkelbazillen geheilt haben. — Gegen diese Mitteilungen Friedmanns sind von verschiedenen Autoren Einwände erhoben worden.

In neuester Zeit referierte Orth in einer Sitzung der Berliner medizinischen Gesellschaft[11]) über Kontrollversuche, die er an von Friedmann mit Schildkrötentuberkelbazillen vorbehandelten Meerschweinchen vornahm. Diese Tiere zeigten nach der Infektion mit Tuberkelbazillen eine etwas längere Lebensdauer als die Kontrolltiere. Ein gewisses Resultat der Vorbehandlung war also zu konstatieren.

Levy[12]) machte am Internationalen Tuberkulosekongreſs in Paris 1905 Mitteilungen über seine seit vielen Jahren unternommenen Immunisierungsversuche mit glyzerinisierten Tuberkelbazillen. Durch vorübergehenden Aufenthalt in Glyzerin erleiden Tuberkelbazillen eine Abschwächung ihrer Virulenz. Interessant ist die Beobachtung von L., daſs in dieser Weise behandelte Tuberkelbazillen auf künstlichen Nährböden in langen Fäden wachsen und den Aktinomyzeten sehr ähnlich sind. Die Abschwächung der Tuberkelbazillen gelang Levy[30]) auch mit Galaktose- und Harnstofflösung.

Alle diese Versuche haben dazu beigetragen, die Annahme zu befestigen, daſs die Säurefesten einer wohl charakterisierten Gruppe angehören, welcher auch die Aktinomyzeten nahe stehen. Zu einer praktisch verwertbaren Immunisierungsmethode haben sie bisher noch nicht geführt.

In der vorliegenden Arbeit stellten wir uns die Aufgabe, die Gruppe der Säurefesten nach verschiedenen Richtungen hin zu untersuchen, um eventuell Näheres über die verwandtschaftlichen Beziehungen dieser so wichtigen Mikroorganismen zu eruieren. In fünf Abschnitten werden folgende Untersuchungen mitgeteilt:

1. Verhalten einiger »Säurefester« und Aktinomyzeten auf Nährböden, auf denen schon einmal ein Bazillus derselben Gruppe gewachsen war.

2. Pathogenität einiger Stämme und Immunisierung von Meerschweinchen mit denselben.

3. Agglutinationsversuche mit den Seris von tuberkulösen und unsern vorbehandelten, nicht tuberkulösen Meerschweinchen.

4. Komplementbindungsversuche.

5. Prüfung der vorbehandelten Tiere auf Immunität gegenüber Tuberkelbazillen.

Die zu unsern Versuchen verwendeten Stämme waren sämtlich in der Sammlung des Instituts vorhanden mit Ausnahme der homogenen Tuberkelbazillen, für deren gütige Übersendung wir Herrn Prof. Courmont in Lyon zu groſsem Dank verpflichtet sind. Alle Stämme wuchsen gut auf gewöhnlichen Nährböden

und bei 37°; einzig die Blindschleichentuberkelbazillen wurden bei 22° und ein Tuberkulosestamm (Stamm H) seit längerer Zeit bei 28° gezüchtet. C. Fraenkel[13]) teilte gröfsere Versuchsreihen mit, in welchen er nachwies, dafs Tuberkelbazillen auch bei niedriger Temperatur, selbst bei gewöhnlicher Zimmerwärme, zu wachsen vermögen, ohne ihre Virulenz einzubüfsen. Die gleiche Beobachtung machten wir mit unserm Stamm H, welcher sich, bei 28° gezüchtet, für Meerschweinchen noch pathogen erwies.

I.

Wachstum einiger säurefesten Mikroorganismen auf schon einmal mit Bazillen derselben Gruppe geimpften Nährböden.

Die Tatsache, dafs Typhusbazillen auf Nährböden, auf welchen schon Koli gewachsen war, nicht zur Entwicklung gelangen, während umgekehrt Koli auf wieder sterilisierten Nährmedien des Typhusbazillus zu wachsen vermag, veranlafste uns, diese Frage auch bei der Gruppe der Säurefesten zu studieren. Es wurden feste und flüssige Nährböden verwendet.

Tabelle I.
Wachstum einiger säurefesten Mikroorganismen auf schon einmal mit Bazillen derselben Gruppe geimpftem Agar.

Der Nährboden wurde zum 2. Male beschickt mit	Der Nährboden war zuerst geimpft mit			
	B. Tobler II	B. Moeller II	Act. Eppinger	Act. Farcin
Blindschleichen Tb.	×	×		+
Bac. Tobler II	×	++		++
» Moeller II	□		×	+
» Tobler III	×			+
Pseudo Tb Petri	+			++
Smegmabacillus	+	+		+
Actinomyces Eppinger	+	+		+
» Farcin	+	+	×	+

++ = üppiges Wachstum □ = sehr spärlich
+ = gutes » 0 = kein Wachstum.
× = spärlich

Die in unserer Tabelle I wiedergegebenen Versuche wurden folgenderweise ausgeführt: Üppig gewachsene Agarkulturen der Bazillen Tobler II, Moeller II, Actinomyces Eppinger und Actinomyces Farcin wurden abgeschabt, der Agar im Wasserbade

verflüssigt und wieder schräg erstarren gelassen. Dann wurden die Röhrchen von neuem mit dem gleichen oder einem andern Stamm infiziert (vertikale Kolonne der Tabelle).

Die Tabelle II gibt unsere mit Nährbouillon angestellten Versuche wieder. Von 5 Bouillonkölbchen wurden je eines mit Blindschleichentuberkelbazillen, Bacillus Tobler II, Bacillus Moeller II, Actinomyces Eppinger und Actinomyces farcin infiziert. Die üppig gewachsenen Kulturen wurden eingesammelt und die Bouillon zur Sterilisation teils durch Bakterienfilter filtriert, teils $1\frac{1}{2}$ Stunden im Wasserbad auf 60° erhitzt und nachher in kleine sterile Röhrchen abgefüllt. Die Bouillon des Bazillus Tobler II war bis 70° C erhitzt worden, was eine Trübung derselben zur Folge hatte. Durch längeres Stehen sedimentierte sich der Niederschlag vollständig. Durch 24stündiges Stehenlassen bei Bruttemperatur wurden die Bouillonröhrchen auf Sterilität geprüft und dann mit den in Tabelle II (senkrechte Kolonnen) verzeichneten Stämmen geimpft.

Tabelle II.

Wachstum einiger säurefesten Mikroorganismen auf schon einmal mit Bazillen derselben Gruppe geimpfter Bouillon.

Der Nährboden wurde zum 2. Male beschickt mit	Die Bouillon war zuerst geimpft mit									
	Blind-schleich. Tb		B. Tobler II		B. Moeller II		Act. Eppinger		Act. Farcin	
	filtr.	60°	filtr.	70°	filtr.	60°	filtr.	60°	filtr.	60°
Homogene Tb . . .	□	□	+	□	+	+	+	+	□	□
Blindschleichen Tb .	□	□	+	×	+	++	+	+	+	+
Bac. Tobler I . . .	×	×	×	□	+	++	+	+	×	×
Bac. Tobler II . . .	++	++	++	×	++	++	++	++	++	++
Bac. Tobler III . . .	□	+	×	×	×	+	+	×	+	+
Bac. Tobler IV . . .	+		++		++		++		+	
Bac. Moeller I . . .	+	++	++	+	++	++	++		++	++
Bac. Moeller II . . .	×	×	×	□	×	+	+	×	+	+
Bac. Korn I	×	×	+	×	+	++	+	++	+	+
Pseudo Tb Petri . .	++	++	+	×	++	++	++	++	++	++
Smegmabacillus . . .	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++
Actinomyces Eppinger	+	+	+	×	+	+	+	+	+	+
Actinomyces Farcin .	□	□	+	×	+	++	+	+	+	+
Actinomyces Caprae .	×	×	+	0	+		+	+	×	□
Actinomyces Pferd .	×	□	×	0	+	++	+	+	×	□
Ungeimpfte Kontrolle	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aus den Tabellen geht hervor, dafs fast überall auch nach der zweiten Überimpfung Wachstum stattfand. Verschiedene Stämme, wie Moeller II, Tobler I und Tobler III, ferner die untersuchten Aktinomycesarten, wachsen auch auf frischen Nährböden nicht so üppig wie einige andere, und deshalb sind auch die vertikalen Reihen unserer Tabellen nicht direkt untereinander vergleichbar. Auf der zu hoch erhitzten Bouillon des Bazillus Tobler II fand durchgehend geringeres Wachstum statt als auf den andern. Unterschiede zwischen den erhitzten und den filtrierten Bouillonproben sind sonst nicht zu konstatieren.

Um ev. gegenseitige Entwicklungshemmung nachzuweisen, wurden Agarplatten kreuzweise mit je zwei verschiedenen Stämmen geimpft; die Übertragung geschah mit sterilen Wattetampons. Auf einer Platte wurden mit fünf verschiedenen Stämmen radiär verlaufende Impfstriche angelegt, die sich im Zentrum fast berührten. Als Resultat dieser Plattenversuche ergab sich, dafs die rasch wachsenden Stämme die andern überwucherten. Gleich rasch sich entwickelnde Kulturen wuchsen immer beide nebeneinander weiter, ohne dafs an den Berührungsstellen Zeichen von Entwicklungshemmung auftraten; auf einigen Platten wuchsen die beiden Stämme sogar ineinander hinein.

Als Resultat dieser Versuche ist anzunehmen, dafs eine Ausschliefslichkeit, wie sie in der Typhus-Coligruppe besteht, in der Gruppe der Säurefesten inkl. einiger Aktinomyzeten nicht nachgewiesen werden konnte.

II.

Für unsere Immunisierungsversuche wählten wir folgende fünf Bakterienstämme aus:

1. Blindschleichentuberkelbazillen,
2. Moellers Grasbazillus II,
3. Butterbazillus Tobler II,
4. Actinomyces asteroides Eppinger,
5. Actinomyces farcin (Streptothrix farcinica).

Die Prüfung derselben auf ihre Pathogenität dem Meerschweinchen gegenüber ergab folgendes:

Intraperitoneale Injektion lebender Blindschleichentuberkelbazillen (1 Agaroberfläche) rief eine typisch tuberkulöse Erkrankung hervor: strangförmige Retraktion und Verkäsung des grofsen Netzes und Verkäsung der Iliakaldrüsen (Meerschweinchen 7). Subkutane Injektionen (10 resp. 4 Agaroberflächen) führten ebenfalls bei 2 Meerschweinchen (Meerschweinchen 6 und 9) den Tod herbei. Das eine derselben zeigte starke Gewichtsabnahme. Die Sektion ergab bei beiden grofse Abszesse an der Injektionsstelle, beim einen (trächtigen) Tier einen gelblichen fibrinösen Belag an der Ansatzstelle der Placenta. Eine sichere Todesursache konnte nicht gefunden werden. Auf Grund dieser Erfahrungen wurden die Blindschleichentuberkelbazillen nur noch abgetötet injiziert, teils subkutan, teils intraperitoneal. Die Abtötung erfolgte durch einstündiges Erhitzen im Wasserbade auf 80° C (s. Rosenblat l. c.). Die Infektion mit Blindschleichen-Tb. scheint übrigens nicht immer gleich zu verlaufen: 2 Meerschweinchen, die vor 5 Monaten mit je 2 Ösen lebender Blindschleichen-Tb. subkutan infiziert wurden, sind bis jetzt anscheinend ganz gesund geblieben und haben an Gewicht zugenommen.

Subkutane Injektionen von lebenden Kulturen von Tobler II und von Moeller II wurden gut ertragen.

Bei der Vorbehandlung von Meerschweinchen mit Aktinomycesarten liefsen wir uns durch die Beobachtungen von Nakayama[14]) leiten. Nakayama fand in einer grofsen Reihe von Versuchen, dafs Meerschweinchen, welche intraperitoneal mit Actinomyces Eppinger behandelt worden waren, gegenüber einer zweiten intraperitonealen Injektion des gleichen Stammes überempfindlich sind (Anaphylaxie). 5—30 Stunden, in vereinzelten Fällen erst 50 Stunden nach der zweiten Einspritzung gingen alle Tiere zugrunde. War die erste Infektion subkutan gemacht worden, so trat dieser »Überempfindlichkeitstod« nicht ein; ebenso überstanden die Tiere eine subkutane Zweitinfektion nach intraperitonealar Erstinfektion. Eines unserer Versuchs-

tiere (Meerschweinchen 26) hatte 2 subkutane Injektionen von je 5 Agaroberflächen Actinomyces farcin erhalten, welche es ohne wesentliche Gewichtsabnahme überstand. 6 Tage nach der dritten, intraperitonealen Injektion ging es zugrunde und zeigte bei der Sektion ein mit miliaren Knötchen übersätes Peritoneum und stark geschwollene, nicht verkäste Iliakaldrüsen. Infolgedessen injizierten wir unsere beiden Aktinomycesstämme nur noch subkutan, Actinomyces Eppinger in kleineren, Act. farcin in gröfseren Mengen (s. Tabelle III).

Im Anschlufs an diese Vorversuche, welche unternommen worden waren, um die Virulenz der später zur Immunisierung verwendeten Stämme zu prüfen, seien hier zwei Beobachtungen kurz angeführt, die in Übereinstimmung stehen mit einer von Askanazy[15]) gemachten Mitteilung. Askanazy injizierte einem Kaninchen in die Ohrvene eine sehr kleine Menge von Tuberkelbazillen und fand bei dem 8 Monate später eingegangenen Tier eine Lungentuberkulose mit Kavernen und zahlreichen Käseherden, die einer Inhalationstuberkulose sehr ähnlich sah. Daneben waren nur noch einige miliare Herde in der rechten Niere vorhanden. — Eine ähnliche Beobachtung weisen unsere Protokolle auf: Ein Kaninchen (K. 2) wurde mit einer gröfseren Dosis Tuberkelbazillen (Stamm S) intravenös behandelt. $2^1/_2$ Monate nachher ging es ein und zeigte folgenden Sektionsbefund: Lungengewebe verdichtet, Oberfläche leicht gekörnt, keine Knötchen sichtbar. Die mikroskopische Untersuchung ergab das Bild einer indurativen Pneumonie mit sehr geringer Leukozytose und wenig Fibrinexsudat. Daneben waren Riesenzellen und verkäsende, nekrotisierende Stellen vorhanden. Die übrigen Organe waren frei von jeder Erkrankung. Es handelte sich also um einen isolierten, tuberkulös-pneumonischen Prozefs nach intravenöser Injektion.

Eine ebenfalls lokalisierte Tuberkulose der Lungen beobachteten wir nach subkutaner Injektion eines Organbreies, der von einem perlsüchtigen Rind stammte (K. 3). An der Injektionsstelle war ein grofser Abszefs vorhanden, dessen Kapsel mit Knötchen reich besetzt war. Die Lungen waren mit harten

gelben Herden ganz durchsetzt und die Pleura parietalis zeigte einige Tuberkelknötchen. Sonst fanden wir alle Organe frei von Krankheitsherden. — Diese letzte Beobachtung zeigt also, wie auch aus einem subkutanen tuberkulösen Herd eine Lungentuberkulose entstehen kann, die nach früheren Anschauungen als sichere Inhalationstuberkulose erklärt worden wäre. In neuerer Zeit ist man jedoch geneigt, die Rolle der aerogenen Tuberkuloseinfektion zugunsten anderer Infektionswege, besonders des intestinalen, zu beschränken. Vereinzelte Autoren, wie Calmette, gehen sogar so weit, die Möglichkeit der Infektion durch Inhalation ganz zu bestreiten.

Immunisierung. Als Versuchstiere dienten ausschliefslich Meerschweinchen mit einem Anfangsgewicht von 250—350 g. Zur Injektion benutzten wir Aufschwemmungen abgeschabter Agaroberflächenkulturen in steriler physiologischer Kochsalzlösung. Die Einspritzungen waren meistens, besonders im Anfang der Vorbehandlung, von starker Abszefsbildung an der Injektionsstelle und vorübergehender Gewichtsabnahme gefolgt. Die Abszesse brachen nach den ersten Injektionen meist spontan auf, während sie später oft resorbiert wurden. Die Einspritzungen wurden immer erst dann wiederholt, wenn das Körpergewicht der Tiere die frühere Höhe wieder erreicht hatte. — In Tabelle III stellen wir unsere Immuntiere zusammen mit Angabe der immunisierenden Stämme, der Art und der Anzahl der Injektionen und der Immunisierungsdauer. Die Gesamtmengen der injizierten Bazillenmengen werden in Agaroberflächen angegeben.

Da mehrere, in Tabelle III nicht angeführte Meerschweinchen während der Vorbehandlung an Stallpneumonien (im Frühjahr und Herbst während des Futterwechsels) zugrunde gingen, hatten wir Gelegenheit, bei Sektionen etwaige Veränderungen, welche die Immunisierung hinterlassen hatte, zu sehen. Meerschweinchen 14, das mit 4 Agaroberflächen abgetöteter Blindschleichentuberkelbazillen intraperitoneal behandelt worden war, zeigte keine tuberkulösen Veränderungen. Meerschweinchen 21 hatte im ganzen 18 Agarkulturen des Grasbazillus Moeller II subkutan

erhalten, Meerschweinchen 2 18 Oberflächen Bazillus Tobler II, Meerschweinchen 3 und 4 je $7^1/_2$ Oberflächen Actinomyces Eppinger, Meerschweinchen 5 und 15 18 resp. 8 Oberflächen Actinomyces farcin; bei keinem der Tiere fanden sich Veränderungen, welche auf die Vorbehandlung zurückzuführen gewesen wären. Da die Beobachtungsdauer dieser letztgenannten Meerschweinchen im Durchschnitt 5 Monate betrug, darf die auf diesem Wege ausgeführte Immunisierung als unschädlich bezeichnet werden.

Tabelle III.
Übersicht über die immunisierten Tiere.

Benennung der Tiere	Immunisierende Stämme	Art der Injektion.	Anzahl der Injektionen	Injizierte Gesamtmengen in Agaroberfl.	Dauer der Vorbehandlung in Tagen
Meerschw. 13	Blindschleichentuberk. (abgetötet)	subkut.	6	5	294
» 28	»	»	3	4	407
» 36	»	intraperit.	3	$1^1/_2$	54
» 37	»	»	3	$1^1/_2$	54
» 38	»	subkut.	3	$1^1/_2$	59
» 39	»	»	3	$1^1/_2$	45
» 1	Bac. Moeller II . .	»	5	22	434
» 35	» » . .	»	2	5	29 (†)
» 18	Bac. Tobler II . .	»	4	20	213
» 19	» » . .	»	6	29	453 (†)
» 20	» » . .	»	5	24	481
» 22	Actin. Eppinger . .	»	4	4	202
» 23	» » . .	»	6	6	470
» 24	» » . .	»	5	5	470
» 16	Actin. Farcin . .	»	5	20	214
» 17	» » . .	»	5	23	482
» 27	» » . .	»	3	15	408

III.
Agglutination.

Die Agglutinationsreaktion, welche für die Typhusdiagnose einen so hohen Wert erlangt hat, wurde auch zur Erkennung von tuberkulösen Affektionen beizuziehen gesucht. Aus verschiedenen Gründen gestalteten sich hier die Verhältnisse schwieriger als bei der Typhusagglutination. Bei letzterer ist

neben der Häufchenbildung der Verlust der Eigenbewegung der Bazillen charakteristisch für eine positive Reaktion. Da dieses Kriterium bei Verwendung der unbeweglichen Tuberkelbazillen von vornherein wegfiel, gelangte man zu der Überzeugung, dafs für die Diagnose der Tuberkulose nur eine makroskopische Reaktion, analog der Fickerschen beim Typhus, in Frage kommen könne. Es stellte sich auch heraus, dafs abgetötete Tuberkelbazillen sich in gleicher Weise wie abgetötete Typhusbazillen zu Agglutinationsversuchen verwenden lassen. Eine weitere Schwierigkeit bietet die Herstellung einer geeigneten Testflüssigkeit. Die Tuberkelbazillen wachsen auf festen Nährböden in Form von trockenen Schuppen, auf flüssigen bilden sie eine oberflächliche Haut; es gelingt nur schwer, die Kulturen so fein zu zerreiben, dafs die einzelnen Stäbchen voneinander getrennt werden. Die Zahl der vorgeschlagenen Methoden für die Herstellung einer homogenen Aufschwemmung illustriert die Verhältnisse am besten. Koch[16]) verwendet eingetrocknete, zu feinem Staub zerriebene Kulturen, welche in Karbol-Kochsalzlösung aufgeschwemmt werden. — Köppen[17]) erhielt durch Verseifung eingetrockneter Bouillonkulturen mit 33 proz. Natronlauge eine milchige Agglutinationsflüssigkeit. — Die Behringsche Testflüssigkeit wird durch Zerkleinerung von abgetöteten Kulturen und Emulgierung in alkalischem Wasser ($^1/_2$ proz. NaOH) hergestellt; nachher wird diese Emulsion mit Essigsäure neutralisiert. — Arloing und Courmont gelang es, durch häufiges Schütteln von Bouillonkulturen einen Tuberkelbazillenstamm zu züchten, welcher durch sein Wachstum Bouillon diffus trübt (homogene Tuberkelbazillen). Diese Bouillonkulturen werden verdünnt und als Agglutinationsflüssigkeit verwendet.

Anfangs schien die Agglutinationsreaktion auch in der Diagnostik der tuberkulösen Krankheiten ein wichtiges Hilfsmittel zu werden. Man glaubte, auch die Schwere der Erkrankung nach dem Agglutinationsresultat beurteilen zu können. Die zahlreichen Nachprüfungen der Methode haben jedoch sehr divergente Ansichten gezeitigt, und auch heute noch stehen die Autoren in zwei getrennten Lagern. Auf der einen Seite hält

Arloing zusammen mit anderen Forschern daran fest, dafs ein positiver Ausfall der Serumreaktion diagnostischen Wert besitze, während ein negatives Resultat Tuberkulose nicht auszuschliefsen gestatte. Am Internationalen Tuberkulosekongrefs 1905 in Paris wurde dieser Standpunkt von Arloing selbst wieder vertreten. Mit ihm halten Bendix[18]) u. a. die Reaktion für prognostisch wertvoll. Jessen[19]) in Davos gelangte zu dem Resultat, dafs ein Ansteigen des Agglutinationswertes mit einer klinischen Besserung einhergehe, obschon sehr hohe Werte auch nicht einer Heilung entsprechen. Jessen erkennt also einen gewissen prognostischen Wert der Methode an; für diagnostische Zwecke hält er jedoch nur Agglutinationswerte von 1 : 25 an aufwärts für verwertbar. — Koch[16]) hob hervor, dafs der Ausfall von Agglutinationsversuchen einen gewissen Wertmesser für den Immunitätsgrad bilde, indem die Agglutination als ein Teilfaktor der Immunität anzusehen sei. Mit vielen andern Autoren, wie Beck und Rabinowitsch, Fraenkel, Romberg, Dieudonné und Neisser, Ruitinga, Thellung[20]), spricht Koch der Agglutinationsreaktion jede diagnostische Bedeutung ab, da sie oft bei leichten und schweren Fällen von Tuberkulose versage. — Anderseits sind sehr viele positive Agglutinationsresultate mit Seren nachweisbar gesunder Individuen bekannt geworden (Dubard und de Grazia, Koch, Karwacki und Benni[21]), Sobernheim, Arloing und Courmont, Beck und Rabinowitsch, Ruitingo, Panisset). In neuester Zeit veröffentlicht Rifsling[32]) eine gröfsere Reihe von Versuchen mit dem Serum normaler Pferde, Rinder, Schweine und Schafe. Er erhielt positive Agglutination bei Serumverdünnungen von 1 : 20 bis 1 : 50, in vereinzelten Fällen sogar 1 : 60.

Die Beurteilung des Ausfalls der Reaktion wird von verschiedenen Autoren sehr ungleichmäfsig gehandhabt, wie die allzu differenten Resultate beweisen. Während die einen mit Serumverdünnungen von 1 : 5, 1 : 10 bis beispielsweise 1 : 50 ihre positive Reaktion erhalten, finden andere solche bei Verdünnungen von 1 : 200, 1 : 400, ja sogar bis 1 : 3000! Solche Differenzen lassen sich vielleicht durch die Verschiedenheit der

verwendeten Testflüssigkeiten erklären, sprechen aber jedenfalls wenig für die Brauchbarkeit einer wissenschaftlichen Methode.

Über ähnliche Versuche, wie die im folgenden mitgeteilten, berichtet schon Koch.[16]) Er hatte Tiere mit Blindschleichentuberkelbazillen und mit Moellers Grasbazillen vorbehandelt und fand, dafs das Serum dieser Tiere Aufschwemmungen aller bekannten säurefesten Mikroorganismen agglutiniere. Auch Sera tuberkulöser Tiere agglutinierten alle Vertreter der Gruppe, wie Perlsuchtbazillen, Geflügel-, Fisch- und Blindschleichentuberkelbazillen, Butter- und Grasbazillen u. a. Diphtherie-, Typhus-, Coli- und Pestbazillen wurden dagegen durch alle diese Sera nicht beeinflufst. Koch kam also zum Schlufs, dafs die Säurefesten durch Agglutinationsversuche nicht unterschieden werden können. — Demnach wäre auch die Agglutination, wie die Tuberkelinreaktion nicht nur als eine Art-, sondern als eine Gattungsreaktion aufzufassen.

Eigene Versuche.

Als Agglutinationsflüssigkeiten verwendeten wir die von Koch angegebene, dann Bouillonkulturen von homogenen Tuberkelbazillen, ferner Aufschwemmungen von drei Tuberkulosestämmen (Stämme S, H und I) und von Perlsuchtkulturen und schliefslich Suspensionen von Agarkulturen unserer fünf zur Immunisierung verwendeten Bazillenstämme. Die Kochsche Testflüssigkeit wurde genau nach den gegebenen Vorschriften hergestellt. Die sehr zahlreichen negativen Resultate, welche ihre Verwendung zeitigte, veranlafsten uns, besondere Sorgfalt bei der Emulgierung des Höchster Präparats »zerriebene Tuberkelbazillen« walten zu lassen. — Zur Herstellung der übrigen Testflüssigkeiten wurden Agar- oder Kartoffelkulturen der betreffenden Stämme abgeschabt, bei der entsprechenden Temperatur (s. Rosenblat l. c.) abgetötet und im Exsikkator über Chlorkalzium oder konzentrierter Schwefelsäure getrocknet. Die vollständig trockenen Bazillen wurden dann im Achatmörser zu feinem Pulver zerrieben und dann in Karbol-Kochsalzlösung

(0,8 % NaCl, 0,5 % Phenol) langsam aufgeschwemmt. Es ist wichtig, zuerst mit 1—2 Tropfen der Flüssigkeit recht intensiv und lange zu zerreiben, weil nachher mit gröfserer Menge Kochsalzlösung die Isolierung der einzelnen Bazillen kaum mehr möglich ist. Um alle gröfseren Bazillenhäufchen zu entfernen, wird nun tüchtig zentrifugiert und dann die vom Bodensatz abgehobene Flüssigkeit mit Karbol-Kochsalzlösung weiter bis zur noch deutlichen Opaleszenz verdünnt. Diese zu den Versuchen verwendeten Agglutinationsflüssigkeiten entsprachen in der Dichte der Suspension ungefähr der Kochschen Testflüssigkeit in der Verdünnung 1 : 5000. Wir wählten deshalb die Aufschwemmungen etwas dichter, weil wir auch mit der weniger verdünnten Kochschen Flüssigkeit einige positive Resultate erhielten, während die angegebene Verdünnung von 1 : 10000 fast immer negative Resultate lieferte.

Die zur Serumgewinnung nötigen Blutmengen wurden bei unsern Meerschweinchen meistens aus einer Ohrvene entnommen. Bei Tieren, wo diese Methode wegen zu geringer Gefäfsentwicklung versagte, legten wir eine der an den Pfoten oft sichtbaren subkutanen Venen frei und gelangten so zum Ziel.

Unsere Resultate stellen wir in den Tabellen IV—VI zusammen. Wir untersuchten zunächst (Tab. IV), ob sich unsere Agglutinationsflüssigkeiten durch die Sera nachweisbar tuberkulöser Tiere (Meerschweinchen = M, Kaninchen = K) agglutinieren lassen. Ein »agglutinierendes Serum« wurde uns von den »Farbwerken vorm. Meister, Lucius & Brüning« in Höchst a. M. in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt (= Serum Höchst). — Die Tabelle V zeigt die Resultate, welche wir mit den Seris unserer vorbehandelten, nicht tuberkulösen Tiere erzielten. Schliefslich wurden noch einige mit Seris normaler Meerschweinchen erhaltene positive Agglutinationsreaktionen zusammengestellt (Tab. VI). Die horizontalen Zahlenreihen zeigen, wie sich ein und dasselbe Serum den verschiedenen Aufschwemmungen gegenüber verhalten hat, während die vertikalen Kolonnen Schlüsse zu ziehen erlauben auf die Agglutinabilität jeder Testflüssigkeit. Mit dem Zeichen — wurden negative Re-

sultate bezeichnet, während freigelassene Rubriken Lücken in den Versuchsreihen bedeutet. Die eingetragenen Verhältnisse geben die höchsten Serumverdünnungen an, welche noch ein sicher positives Resultat ergaben. Als positiv wurde ein Versuch nur dann bezeichnet, wenn entweder Sedimentierung auftrat oder wenigstens gröbere Flocken sich zeigten. Geringere Trübungen und sogar feine Flockenbildung wurden nicht berücksichtigt, da sie hie und da auch in den Kontrollröhrchen auftraten. Daher wurden für jeden Versuch 2 Kontrollen angesetzt: 1. Serum + Karbol-Kochsalzlösung. 2. Aufschwemmung allein, letzteres um ev. Spontanagglutination der Agglutinationsflüssigkeit anzuzeigen.

Tabelle IV.

Agglutinationsversuche mit Seris tuberkulöser Tiere.

Bezeichnung der Tiere oder Sera	Agglutinationsflüssigkeiten										
	Kochsche Aggl. fl.	Tb Stamm S	Tb Stamm H	Tb Stamm J	Homogene Tb	Perlsucht	Blindschleichen Tb	Bac. Tobler II	Bac. Moeller II	Actin. Eppinger	Actin. Farcin
Meerschw. 31 .	—	1 : 75	1 : 75	1 : 25	1 : 100	1 : 75	1 : 75	1 : 75	1 : 10	1 : 10	1 : 50
Kaninchen 2 .		1 : 75	1 : 75			1 : 75	—	1 : 25	—	1 : 25	1 : 10
Serum Höchst .	—			—	1 : 100		—	1 : 100	1 : 10	1 : 25	1 : 10

Tabelle V.

Agglutinationsversuche mit den Seris der vorbehandelten, nicht tuberkulösen Tiere.

Bezeichnung der Tiere	Vorbehandelt mit folgend. Stämmen	Agglutinationsflüssigkeiten								
		Kochsche Aggl.-Fl.	Tb Stamm S	Tb Stamm H	Perlsucht	Blindschleichen Tb	Bac. Tobler II	Bac. Moeller II	Actin. Eppinger	Actin. Farcin
M. 28	Blindschleich. Tb	—	1 : 50	1 : 50	1 : 50	1 : 50	1 : 10	1 : 10	1 : 25	1 : 25
M. 19	Bac. Tobler II .	—	1 : 25	1 : 50	1 : 25	1 : 25	1 : 25	—	1 : 25	—
M. 21	Bac. Moeller II .		1 : 25	1 : 50	1 : 25	1 : 25	1 : 25	1 : 25	—	—
M. 24	Act. Eppinger . .	—	1 : 25	1 : 75	1 : 10	1 : 25	1 : 25	1 : 25	1 : 10	1 : 75
M. 17	Act. Farcin . .		1 : 25	1 : 50	1 : 50	1 : 25	1 : 25	1 : 25	1 : 25	1 : 25

Tabelle VI.

Agglutinationsversuche mit Seris normaler Meerschweinchen.

Bezeichnung der Sera	Agglutinatinationsflüssigkeiten								
	Kochsche Aggl.-Fl.	Tb Stamm S	Perlsucht	Homogene Tb	Blindschleichen Tb	Bac. Tobler II	Bac. Moeller II	Actin. Eppinger	Actin. Farcin
Normalserum 1 . . .	—			—	1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10
» 2 . . .	—			1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10	1 : 10
» 3 . . .	1:10	1 : 10	1 : 10	—	—	—	—	1 : 10	1 : 10

Aus den Tabellen IV—VI geht hervor., dafs Sera, welche sowohl von tuberkulösen, als auch von nicht tuberkulösen, mit einigen säurefesten Bazillen und Actinomyceten immunisierten Tieren stammen, die verwendeten Bazillenaufschwemmungen mit einigen Ausnahmen zu agglutinieren vermögen. Die gleiche Fähigkeit besitzen einige Normalsera, allerdings nur in höhern Konzentrationen.

Wenn wir auf einzelne Resultate näher eingehen, so ist zu. nächst auffallend, dafs wir mit der Kochschen Testflüssigkeit so schlechte Resultate erzielten. Unsere Protokolle enthalten aufser den in den Tabellen aufgeführten Versuchen noch zahlreiche andere. Ein einziges Mal erhielten wir ein positives Resultat bis zur Verdünnung 1 : 50 und zwar mit dem Serum eines noch nicht schwer tuberkulösen Meerschweinchens (M. 33); dasselbe Serum agglutinierte unsern Tuberkelbazillenstamm I ebenfalls bis 1 : 50. Andere noch nicht schwer kranke tuberkulöse Tiere (M. 8, 29, 30) reagierten dagegen absolut nicht. Ein mit Blindschleichentuberkelbazillen vorbehandeltes Tier (M. 13) ergab nach der Kochschen Methode ein ganz negatives Resultat, trotzdem das nämliche Serum Blindschleichentb. bis 1 : 75 und Actinomyces Eppinger 1 : 10 agglutinierte. Das Normalserum 3 ergab dagegen in der Verdünnung von 1 : 10 ein positiives Resultat. Mit dem »Serum Höchst« machten wir die Beobachtung, dafs die Kochsche Aufschwemmung nur dann bis 1 : 25 agglutiniert wurde, wenn sie weniger verdünnt zur

Anwendung kam (1 : 3000 statt 1 : 10000). Ähnliche Resultate sind schon von andern Autoren mitgeteilt worden. Rissling (l. c.) gibt an, dafs die Reaktion mit dichterer Aufschwemmung (1 : 1000) leichter zu beurteilen sei. — Aus früher schon betonten Gründen glauben wir, diese schlechten Resultate nicht unserer Methodik zur Last legen zu müssen; vielmehr zweifeln wir daran, dafs das Höchster Präparat, von dem wir zwei verschiedene Fläschchen verwendeten, noch den zu stellenden Anforderungen entsprach.

Auffallend in unsern Tabellen ist ferner, dafs ein Serum oft fast alle unsere Aufschwemmungen agglutinierte und nur die eine oder andere unbeeinflufst liefs. So ergab z. B. das Serum des Kaninchens 2 mit Blindschleichentb. und mit Bac. Moeller II kein positives Resultat, trotzdem sich die betreffenden Testflüssigkeiten sonst als gut agglutinierbar erwiesen. — Das Serum des Meerschweinchens 24 agglutinierte den Tuberkelbazillenstamm H und Actinomyces farcin viel höher als Actinomyces Eppinger, mit dem das Tier immunisiert worden war.

Die homogenen Tuberkelbazillen erwiesen sich als sehr leicht agglutinierbar. War eine Reaktion einmal positiv, so blieb sie es bis zu der Serumverdünnung 1 : 100. Während das Serum eines tuberkulösen Tieres (M. 8) die Aufschwemmung des Tb.-Stammes I ganz unbeeinflufst liefs, wurden die homogenen Tb. bis 1 : 100 prompt agglutiniert. Auch die Agglutination durch das Normalserum 2 (1 : 10) bestand in einer vollständigen Sedimentierung, wie wir sie bei andern Testflüssigkeiten nur selten sahen. Wegen dieser leichten Agglutinierbarkeit mufsten wir von der Verwendung der homogenen Tb. für vergleichende Versuche absehen.

Auf Grund aller dieser Erfahrungen gelangten wir, in Übereinstimmung mit vielen im vorangehenden zitierten Autoren, zu folgenden Schlüssen über die Methode der makroskopischen Agglutination von säurefesten Bazillen und einigen Aktinomyceten:

1. Die Methode versagt häufig bei leichten und schweren Fällen von Tuberkulose der gewöhnlichen Versuchstiere.

2. Auch normale Sera geben oft positive Resultate.
3. Weil verschiedene Testflüssigkeiten sehr verschieden leicht agglutinierbar sind, können nur Versuche der gleichen Versuchsreihe mit einander verglichen werden.
4. Da die Beurteilung der Resultate der Reaktion schwierig ist und sehr verschieden gehandhabt wird, sind die Angaben der verschiedenen Autoren nicht vergleichbar.
5. Die Reaktion ist deshalb für diagnostische Zwecke nicht verwendbar.

Die Fragen, welche wir durch unsere Agglutinationsversuche zu beantworten suchten, waren folgende:

1. Läfst sich mittels der Agglutination der Beweis erbringen, dafs eine Verwandtschaft der säurefesten Mikroorganismen unter sich und mit den Actinomyceten besteht?
2. Können Verschiedenheiten in dem Verhalten der untersuchten Stämme konstatiert werden, welche eine schärfere Begrenzung von Arten ermöglichen?

Darüber sind wir zu folgenden Schlüssen gelangt:

Die Tatsache, dafs ein und dasselbe Serum eines tuberkulösen Tieres sowohl Tuberkelbazillen als auch sog. Pseudotuberkelbazillen und Vertreter der Actinomyceten zu agglutinieren vermag, kann für die Annahme der Verwandtschaft aller dieser Mikroorganismen wohl eine Stütze bilden. Dafs durch Vorbehandlung mit avirulenten Säurefesten und Actinomyceten Sera erzeugt werden, welche die ganze Reihe mit wenigen Ausnahmen agglutinieren, bestärkt uns ebenfalls in dieser Ansicht Einen Beweis halten wir jedoch durch solche Versuche nicht für erbracht, da die angewandte Methode unzuverlässig ist. — Verschiedenheiten in dem Verhalten der einzelnen Stämme konnten wir nicht finden, so dafs die schon von Koch gemachten Angaben zu Recht bestehen, dafs die Säurefesten, denen wir auch zwei Actinomycestämme anreihen dürfen, durch Agglutination nicht unterschieden werden können.

IV.

Komplementbindungsversuche.

Die Methode, durch Komplementbindung in einem Blutserum spezifische Ambozeptoren (Sensibilisatoren) nachzuweisen, wurde im Jahre 1901 von Bordet und Gengou in den »Annales de l'Institut Pasteur« veröffentlicht. Das Prinzip derselben ist folgendes:

Sind in einem Serum durch Vorbehandlung (Immunisierung) mit einem Antigen (z. B. einer Bakterienart oder roten Blutkörperchen einer bestimmten Tierspezies) spezifische Ambozeptoren erzeugt worden, so suchen dieselben Komplement (Alexin) auf ihr Antigen zu fixieren. Durch diese Komplementfixation bewirken bakteriolytische Ambozeptoren die Auflösung der betreffenden Bakterien, haemolytische die Auflösung jener Erythrozyten, gegen welche sie spezifisch sind. Ohne Komplement tritt keine Bakteriolyse resp. Haemolyse ein. Um nun in einem Serum solche einer bestimmten Bakterienart gegenüber spezifische Ambozeptoren nachzuweisen, bringt man dasselbe zusammen mit den betreffenden Mikroorganismen resp. Extrakten aus denselben und fügt Komplement hinzu. Dieses Gemisch wird für 1—2 Stunden in den Brutschrank gebracht, da die Komplementverankerung bei Bruttemperatur leichter vor sich geht. Sind nun in dem untersuchten Serum spezifische Ambozeptoren vorhanden, so wird das hinzugefügte Alexin gebunden. Als Indikator dafür, ob diese Bindung wirklich stattfand, oder ob das Komplement noch frei vorhanden ist, wird die Haemolyse verwendet. Man bringt also zum ersten Gemisch haemolytischen Ambozeptor und Erythrozyten, welch letztere in Gegenwart von Komplement nun aufgelöst werden; aus der undurchsichtigen Blutkörperchenaufschwemmung wird dadurch eine durchsichtige klare, rot gefärbte Lösung. Tritt diese Haemolyse aber nicht ein, so war kein freies Komplement mehr vorhanden, das untersuchte Serum enthielt also spezifische Ambozeptoren.

Wie jedes normale Serum enthalten das zu untersuchende sowie das haemolytische Serum neben den Ambozeptoren auch

Komplement. Damit nun nur die zugefügte, abgemessene Alexinmenge zur Wirkung gelangen kann, mufs das Komplement der andern beiden Sera durch einstündiges Erhitzen auf 56—58° C zerstört werden (Inaktivierung).

Die Prüfung dieser Methode durch zahlreiche Autoren ergab eine grofse Zahl von Fehlerquellen, welche von Wassermann, Bruck, Neisser und Schucht[23]) zusammengestellt worden sind. So wurde beispielsweise gefunden, dafs Bakteriensuspensionen, Bakterienextrakte, Sera, Niederschläge und Trübungen oft für sich allein schon Komplement binden. Moreschi[24]) erwähnt noch eine ganze Anzahl von Stoffen, darunter Sackleinwand (Uhlenhuth), bei denen die verschiedensten Autoren Komplementverankerung konstatiert haben. Es sind daher nur solche Mengen von Bakteriensuspensionen, -extrakten und Serum zu verwenden, welche allein die Haemolyse nicht hemmen. Auch sind trübe Sera und Verdünnungsflüssigkeiten von den Versuchen auszuschliefsen.

Wassermann verwendet bei seinen Untersuchungen keine Vollbakterien, wie Bordet, Moreschi u. a., sondern nur Bakterienextrakte. Moreschi (l. c.) hält es jedoch nicht für erwiesen, dafs wässrige Extrakte wirklich die nötigen Substanzen enthalten.

Weitere Versuchsfehler sind durch unrichtige Mengenverhältnisse zwischen haemolytischem Ambozeptor und Komplement bedingt. Es darf nur die zur Auflösung einer bestimmten Erythrozytenmenge nötige Komplementmenge hinzugefügt werden, indem ein Überschufs an Alexin schwächere Grade von spezifischer Komplementbindung verdecken würde.

Das als Komplement verwendete Meerschweinchenserum soll ganz frisch und die Erythrozyten müssen von jeder Spur Serum gewaschen sein.

Wegen aller dieser Fehlerquellen sind eine grofse Zahl von Kontrollen nötig, auf die wir später eingehen wollen.

Über den Wert und die Zuverlässigkeit der Methode sind die Ansichten verschiedener Autoren schon sehr divergent. Bruck und Wassermann[25]) arbeiteten mit Meningokokken

und gelangten zu dem Resultat, dafs die Reaktion diagnostisch verwertbar sei. Leuchs[26]) studierte diese Frage bei Typhus und Paratyphus und fand, dafs das Verfahren vollständig spezifisch sei, indem Typhusimmunserum mit Paratyphus- und Kolibazillen keine Komplementbindung bewirke. Wassermann, Bruck, Neisser und Schucht (l. c.) halten das Verfahren für den Nachweis der Syphilis bei Tabetikern und Paralytikern geeignet und Bordet beweist mit Hilfe desselben die Spezifität seines Keuchhustenerregers.

Weniger hohe Erwartungen setzen andere Autoren in das Verfahren, so Marie und Levaditi,[27]) welche auch den Nachweis von syphilitschen Antikörpern studiert haben. Moreschi[24]) machte Versuche mit Typhus- und Paratyphusbazillen und gelangte zu dem Resultat, dafs die Reaktion nicht spezifisch sei. Eine Nachprüfung der Leuchsschen Versuche schliefst Moreschi mit folgenden Sätzen: 1. Das Komplementbindungsverfahren ist zum Nachweis kleiner Bakterienmengen ungeeignet. 2. Das Verfahren ist keine quantitativ exakte Methode zur Titration eines Typhusimmunserums auf Antikörper.

Über ähnliche Versuche, wie die im folgenden mitgeteilten, berichtet Gengou[27]), welcher fand, dafs Säurefeste im Tierkörper spezifische Ambozeptoren sowohl gegenüber den homologen als auch andern Stämmen derselben Gruppe zu bilden vermögen. Schon vorher hatten Bordet und Gengou nachgewiesen, dafs beim Meerschweinchen durch Injektion von Hühnertuberkelbazillen Sensibilisatoren gegen Menschen- und Hühnertuberkelbazillen gebildet werden. Bruck und Wassermann[28]) benutzten die Komplementbindungsmethode zum Nachweis von spezifischen Ambozeptoren bei Phthisikern.

Eigene Versuche.

Zur Herstellung von Bazillenextrakten wurden üppig gewachsene Agarkulturen in kleinen Mengen sterilen Wassers aufgeschwemmt, bei entsprechender Temperatur ab-

getötet und 3 × 24 Stunden der Autolyse überlassen (teilweise im Schüttelapparat). Die klarzentrifugierte Flüssigkeit wurde mit 0,5 % Phenol versetzt und so zu den Versuchen verwendet.

Das haemolytische Serum lieferten zwei Kaninchen, welche mehrere subkutane Injektionen von je 2 ccm gewaschener Rinderblutkörperchen erhalten hatten. Bei dem einen Tier, dessen Serum nach einer Pause von 5 Monaten seine haemolytischen Eigenschaften fast ganz eingebüfst hatte, machten wir die Beobachtung, dafs erneute Injektionen von roten Blutkörperchen keine neuen haemolytischen Ambozeptoren hervorriefen; der Titer des Serums war nicht mehr zu steigern.

Als Komplement verwendeten wir frisches, klar zentrifugiertes Meerschweinchenserum. Bei 2 Versuchen erzielten wir mit Meerschweinchenalexin, das von 2 älteren Tieren stammte, auch in den Kontrollen keine komplette Haemolyse. Kaninchenserum, das wir probeweise einigemal verwendeten, erwies sich als ungeeignet.

Die Inaktivierung der Sera wurde durch einstündiges Erhitzen auf 56° im Wasserbade vorgenommen.

Das zu untersuchende Serum wurde immer in abgestuften Mengen zugesetzt, weil auf diesem Wege je nach dem Grad der eingetretenen Haemolyse Schlüsse auf die Menge der vorhandenen spezifischen Ambozeptoren gezogen werden können.

Bei allen Versuchsreihen wurden immer die gleichen Mengen benutzt: 0,1 Extrakt und 0,1 Komplement.

In allen folgenden Tabellen bedeutet:

O = keine Haemolyse (komplette Hemmung),
Spur = ganz schwache Rötung,
+ = schwache Haemolyse, grofse Kuppe,
++ = mittelstarke Haemolyse, mittlere Kuppe,
+++ = starke Haemolyse, kleine Kuppe,
komplett = alle Blutkörperchen gelöst, kein Bodensatz mehr.

Titration des hämolytischen Serums.

Tabelle VII.

Röhrchen-Nr.	Haemolyt. Serum	Komplement	Blutkörperchen	Resultat
1	0,03	0,1	0,05	komplett
2	0,015	0,1	0,05	fast komplett
3	0,01	0,1	0,05	+++
4	0,008	0,1	0,05	+++
5	0,006	0,1	0,05	++
6	0,004	0,1	0,05	++
7	0,002	0,1	0,05	+
Kontrollen mit Weglassung eines Faktors				
8	0,03	—	0,05	O
9	—	0,1	0,05	Spur
10	—	0,2	0,05	Spur
11	—	—	0,05	O
Kontrollen mit Normalserum				
12	0,03	0,1	0,05	Spur
13	0,03	—	0,05	O

Als kleinste, 0,05 Blutkörperchen komplett lösende Menge des haemolytischen Serums erwies sich also 0,03. Für die Versuche wurde stets die doppelt komplett lösende Dosis 0,06 verwendet.

Titration der Komplementmenge.

Tabelle VIII.

Röhrchen-Nr.	Haemolyt. Serum	Komplement	Blutkörperchen	Resultat
1	0,06	0,1	0,05	komplett
2	0,06	0,05	0,05	»
3	0,06	0,025	0,05	»
4	0,06	0,01	0,05	+++
Kontrollen:				
5	0,06	—	0,05	O
6	—	0,1	0,05	Spur
7	—	0,01	0,05	O
8	—	—	0,05	O

Als kleinste zur kompletten Lösung von 0,05 Blutkörperchen durch 0,06 haemolytisches Serum nötige Komplementmenge stellte sich 0,025 heraus. In einigen Versuchen mit 0,05 Komplement, das von einem andern Meerschweinchen stammte, fanden wir jedoch, dafs sogar diese Menge nicht genügte, und zogen es deshalb vor, bei allen Versuchen 0,1 Komplement zu verwenden, trotzdem uns auf diese Weise geringere Grade von spezifischer Komplementbindung entgehen mufsten. Umso sicherer waren dafür die Resultate der positiv ausfallenden Versuche.

Weitere Vorversuche wurden unternommen, um unsere Bazillenextrakte auf ihre komplementbindenden Eigenschaften zu prüfen. Die Tabelle IX zeigt, in welchen Mengen unser Extrakt aus Blindschleichentuberkelbazillen allein die Haemolyse zu hemmen vermochte.

Tabelle IX.

Komplementbindung durch Extrakt aus Blindschleichentuberkelbazillen.

Röhrchen-Nr.	Extrakt	Komplement		Haemolyt. Ser.	Blutkörperchen	Resultat
1	0,5	0,1	2 Stunden Brutschrank	0,06	0,05	+++
2	0,2	0,1		0,06	0,05	komplett
3	0,1	0,1		0,06	0,05	»
4	0,025	0,1		0,06	0,05	»
5	0,2	0,025		0,06	0,05	++
6	0,1	0,025		0,06	0,05	+++
7	0,05	0,025		0,06	0,05	+++
8	0,025	0,025		0,06	0,05	+++
9	0,01	0,025		0,06	0,05	fast komplett

Aus Tabelle IX geht hervor, dafs Extrakt allein schon Komplement zu binden vermag, was besonders bei kleiner Komplementmenge (0,025) deutlich wird. Im Kontrollversuch genügte diese Menge zur kompletten Lösung. Extrakte aus Tuberkelbazillen (Stamm S), Bacillus Moeller II und Actinomyces farcin zeigten eher noch stärkere Komplementbindung als Blindschleichentb.-Extrakt. Schon 0,2 ccm verhinderte die komplette Haemolyse bei sonst gleichen Versuchsbedingungen.

Alle unsere vollständigen Komplementbindungsversuche wurden nach folgendem Schema gemacht: jedesmal wurden alle Kontrollen angesetzt. Um in allen Röhrchen immer die gleichen Flüssigkeitsmengen zu haben, wurde überall mit steriler 0,8 proz. Kochsalzlösung auf 5 ccm aufgefüllt. Extrakt, Versuchsserum und Komplement liefsen wir zwei Stunden bei Bruttemperatur aufeinander wirken und fügten dann haemolytisches Serum und Blutkörperchen hinzu. Nun kamen die Röhrchen für eine Stunde wieder in den Brutschrank und dann bis zum nächsten Morgen in den Eisschrank.

Schema der Komplementbindungsversuche.

(Versuch Nr. I aus Tabelle X in extenso)

Versuchsserum: Kaninchen 2. Extrakt: Tb. Stamm H.

Röhrchen-Nr.	Extrakt	Serum K. 2	Komplement		Haemolyt. Serum	Blutkörp.		Resultat
1	0,1	0,2	0,1	2 Stunden 37°	0,06	0,05	1 Stunde 37°	+
2	0,1	0,1	0,1		0,06	0,05		+ +
3	0,1	0,05	0,1		0,06	0,05		+ + +
4	0,1	0,01	0,1		0,06	0,05		komplett
Kontrollen mit Weglassung eines Faktors:								
5	0,1	0,2	—	2 Stunden bei 37°	0,06	0,05	1 Stunde bei 37°	O
6	0,1	—	0,1		0,06	0,05		komplett
7	0,1	0,2	0,1		—	0,05		O
8	0,1	—	0,1		—	0,05		Spur
9	0,1	—	—		—	0,05		O
10	—	0,2	0,1		0,06	0,05		komplett
11	—	0,1	—		—	0,05		O
12	—	—	0,1		0,06	0,05		komplett
13	—	—	—		0,06	0,05		O
14	—	—	0,1		—	0,05		Spur
15	—	—	—		—	0,05		O
Kontrollen mit normalem inaktivem Meerschweinchen-Serum:								
		norm. Ser.						
16	0,1	0,2	0,1	2 Stunden bei 37°	0,06	0,05	1 Stunde bei 37°	komplett
17	0,1	0,2	—		0,06	0,05		O
18	0,1	0,2	—		—	0,05		O
19	0,1	0,2	0,1		—	0,05		Spur
20	—	0,2	0,1		0,06	0,05		komplett
21	—	0,2	—		—	0,05		O

In Tabelle X stellen wir die Resultate der Versuche zusammen, in welchen das Verhalten der Sera tuberkulöser Tiere verschiedenen Bakterienextrakten gegenüber geprüft wurde. Tabelle XI gibt die Resultate wieder, welche wir mit den Series der vorbehandelten Meerschweinchen erhielten. Sämtliche Versuche, die wir zur Abkürzung der Tabellen nur im Auszug, d. h. ohne Kontrollen, wiedergeben, wurden nach vorstehendem Schema ausgeführt. Nur wenn alle Kontrollen stimmten, wurden die Resultate verwertet.

Tabelle X.

Komplementbindungsversuche mit Seris tuberkulöser Tiere und verschiedenen Extrakten aus Tuberkelbazillen und anderen Stämmen.

Versuch Nr.	Benennung der Tiere	Serummengen	Extrakte	Resultate
I	Kaninchen 2	0,2	Tb Stamm H	+
		0,1		++
		0,05		+++
		0,01		komplett
II	Kaninchen 2	0,2	Homogene Tb	+
		0,1		++
		0,05		+++
		0,01		fast komplett
III	Kaninchen 2	0,2	Blindschleich. Tb	+
		0,1		++
		0,05		fast komplett
		0,01		komplett
IV	Kaninchen 2	0,2	Actin. Eppinger	+
		0,1		++
		0,05		++
		0,01		fast komplett
V	Meerschw. 31	0,2	Homogene Tb	fast O
		0,1		+
		0,05		++
		0,01		+++
VI	Meerschw. 40	0,1	Tb Stamm S	komplett
		0,2		»
		0,05		»
		0,01		»

Tabelle XI.

Komplementbindungsversuche mit den Seris der vorbehandelten, nicht tuberkulösen Tiere mit verschiedenen Extrakten.

Versuch Nr.	Benennung der Tiere	Vorbehandelt mit	Serummengen	Extrakte	Resultat
VII	M. 28	Blindschleich.Tb	0,2	Blindschleich.Tb	+
			0,1		+
			0,05		+ +
			0,01		+ +
VIII	M. 28	Blindschleich.Tb.	0,2	Tb. Stamm S	O
			0,1		Spur
			0,05		+ +
			0,01		fast komplett
IX	M. 28	Blindschleich.Tb.	0,2	Tb. Stamm H	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
X	M. 28	Blindschleich.Tb.	0,2	Homogene Tb.	O
			0,1		O
			0,05		O
			0,01		O
XI	M. 38	Blindschleich.Tb.	0,2	Blindschleich.Tb.	O
			0,1		O
			0,05		Spur
			0,01		fast komplett
XII	M. 39	Blindschleich.Tb.	0,2	Blindschleich.Tb.	O
			0,1		O
			0,05		O
			0,01		Spur
XIII	M. 39	Blindschleich.Tb.	0,2	Tb. Stamm H	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
XIV	M. 39	Blindschleich.Tb.	0,2	Tb. Stamm S	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
XV	M. 39	Blindschleich.Tb.	0,2	Perlsucht	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
XVI	M. 39	Blindschleich.Tb.	0,2	Bac. Tobler II	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»

Versuch Nr	Benennung der Tiere	Vorbehandelt mit	Serum-mengen	Extrakte	Resultat
XVII	M. 39	Blindschleich. Tb.	0,2	Bac. Moeller II	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
XVIII	M. 39	Blindschleich. Tb.	0,2	Actin. Eppinger	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
XIX	M. 39	Blindschleich. Tb.	0,2	Actin. Farcin	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
XX	M. 19	Bac. Tobler II	0,2	Bac. Tobler II	+
			0,1		+
			0,05		+
			0,01		+
XXI	M. 19	Bac. Tobler II	0,2	Tb. Stamm H	+++
			0,1		+++
			0,05		+++
			0,01		+++
XXII	M. 23	Actin. Eppinger	0,2	Actin. Eppinger	+
			0,1		+
			0,05		++
			0,01		+++
XXIII	M. 24	Actin. Eppinger	0,2	Actin. Eppinger	++
			0,1		++
			0,05		+++
			0,01		fast komplett
XXIV	M. 24	Actin. Eppinger	0,2	Tb. Stamm S	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0.01		»
XXV	M. 27	Actin. Farcin	0,2	Actin. Farcin	komplett
			0,1		»
			0,05		»
			0,01		»
XXVI	M. 27	Actin. Farcin	0,2	Tb. Stamm S	+++
			0,1		fast komplett
			0,05		»
			0,01		»

Die aus Tabelle X und XI sich ergebenden Resultate sind folgende:

Aus Tabelle X ist ersichtlich, dafs das Serum eines Kaninchens (K. 2) $1^3/_4$ Monate nach intravenöser Injektion von Tuberkelbazillen und $^3/_4$ Monate vor dem Tode des Tieres eine deutliche Komplementbindung sowohl mit Extrakt aus Tb. als auch mit homogenen und Blindschleichentuberkelbazillen, sowie mit Actinomyces Eppinger ergab. Sehr deutlich war die Reaktion auch mit dem Serum eines schwerkranken Meerschweinchens (M. 31) mit homogenen Tb., negativ dagegen mit dem Serum eines andern tuberkulösen Meerschweinchens (M. 40).

In Tabelle XI sind weitere 20 Versuche zusammengestellt; die dazu verwendeten Sera stammten von 7 verschiedenen Meerschweinchen, von denen 3 mit Blindschleichentb., je eines mit Bac. Tobler und Actinomyces farcin und 2 mit Act. Eppinger vorbehandelt worden waren. Die Versuche wurden mit Extrakten der betreffenden homologen (immunisierenden) Stämme einerseits und mit Extrakten aus anderen Stämmen, besonders Tuberkelbazillen, ausgeführt. Vollständig übereinstimmende Resultate wurden nicht erzielt. Sehr deutlich war die Bindung der Sera der »3 Blindschleichentiere« gegenüber Blindschleichentb. Auffallend günstig war auch Versuch XX ausgefallen: Serum des mit Tobler II vorbehandelten Tieres gegenüber dem homologen Stamm. Warum trotz abgestufter Serummengen keine Verschiedenheit in der Stärke der Hämolyse auftrat, ist uns nicht erklärlich. An eine Hemmung durch Extrakt allein ist nicht zu denken, da alle Kontrollen stimmten.

Eine deutliche Bindung war auch bei den 2 »Eppingertieren« mit dem homologen Stamm vorhanden; einzig das mit Actin. farcin vorbehandelte Tier zeigte mit Extrakt Actin. farcin keine positive Reaktion.

Von den 7 mit Säurefesten resp. Aktinomyceten vorbehandelten Tieren zeigten also 5 eine deutliche, eines eine nicht so deutliche und ein weiteres eine ganz negative Reaktion im Sinne Bordets und Wassermanns dem homologen Stamm gegenüber.

Die mit den Seris der vorbehandelten, nicht tuberkulösen Tiere und mit Extrakten aus verschiedenen Tuberkelbazillen ausgeführten Versuche ergaben sehr verschiedene Resultate, die im ganzen nicht so übereinstimmend waren wie die mit den homologen Extrakten erzielten. Ferner verhielten sich die einzelnen Extrakte nicht gleich. Die homogenen Tuberkelbazillen zeigten in einem Versuch vollständige Hemmung, der Tb.-Stamm H dagegen mit dem gleichen Serum keine Spur von Bindung (Versuche IX u. X). Das Serum des Meerschweinchens 39, welches mit den homologen Blindschleichentuberkelbazillen komplette Hemmung der Hämolyse erzielte, verhielt sich gegenüber 2 Tb-Stämmen (H u. S) sowie unserem Perlsuchtstamm vollständig negativ.

Die wenigen, mit dem Serum des Meerschweinchens 39 und Extrakten aus anderen Säurefesten und Actinomyzeten (Möller II, Tobler II, Actin. Eppinger und Actin. Farcin) ausgeführten Versuche sind vollständig negativ ausgefallen.

Geringe Unterschiede, wie z. B. zwischen Versuch XXV und XXVI, konnten wir auf Grund unserer anderweitigen Erfahrungen nicht berücksichtigen.

Die mangelnde Übereinstimmung der mitgeteilten Versuche ist gewiſs durch verschiedene Faktoren zu erklären. Einmal muſs hervorgehoben werden, daſs die einzelnen Extrakte, möglicherweise die einzelnen Stämme sich ganz verschieden verhalten. Unter den von uns untersuchten Extrakten war namentlich Blindschleichentb.-Extrakt durch leichte Bindung ausgezeichnet Unter den Tuberkulosestämmen waren auch deutliche Unterschiede vorhanden: der Stamm H schien für solche Versuche weniger geeignet zu sein als Stamm S.

Ferner muſs betont werden, daſs wir bei einigen Meerschweinchenseris, welche als Kontrollsera dienten, mit verschiedenen Extrakten zusammen eine sehr starke Komplementbindung konstatierten; in einem Fall trat sogar vollständige Hemmung ein. Wassermann[23]) zählt unter den die Hämolyse allein hemmenden Stoffen neben Bakteriensuspensionen, Trübungen etc. auch normale Sera auf. In unseren Beobachtungen hemmte jedoch nicht das Normalserum allein, denn

Röhrchen 20 zeigte komplette Hämolyse (vgl. Schema S. 208), sondern Normalserum in Verbindung mit Extrakt (Röhrchen 16). Natürlich mufste in solchen Fällen die ganze Versuchsreihe als ungültig erklärt werden. Solche Resultate sind in gewissem Mafse mit positiven Agglutinationsreaktionen in Parallele zu setzen und zeigen, dafs die Methode der Komplementbindung keine absolut zuverlässige ist. Solche Befunde lassen berechtigte Zweifel aufkommen an der Annahme, dafs die Komplementbindung eine spezifische Eigenschaft der Sera sei. Es ist daher bei der Beurteilung aller Komplementbindungsversuche noch gröfste Vorsicht geboten.

Bevor wir über unsere Resultate ein Urteil abgeben, sei hervorgehoben, dafs die Zahl unserer Versuche doch verhältnismäfsig klein ist, und dafs wir uns deshalb eine abschliefsende Meinung nicht anmafsen dürfen. Immerhin können wir hervorheben, dafs sowohl Serum von tuberkulösen als auch von mit anderen Säurefesten behandelten Tieren mit den homologen Extrakten in der Regel eine, im Sinne der Komplementbindung zu deutende Reaktion ergeben. Die Versuche mit heterologen Extrakten können im allgemeinen als negativ betrachtet werden, obschon das Serum des tuberkulösen Kaninchens 2 gegenüber Actin. Eppinger eine fast so deutliche Reaktion ergab, wie das Serum der Meerschweinchen 23 und 24 gegenüber dem homologen Stamm. Unsere Versuche reichen auch nicht aus, um auf Grund der Komplementbindung die verwandtschaftlichen Beziehungen der im infizierten Organismus gebildeten Antikörper nach der einen oder anderen Richtung hin zu deuten. Weitere Untersuchungen sind für die Beantwortung dieser Fragen wünschenswert.

V.

Prüfung der vorbehandelten Tiere auf Immunität gegenüber Tuberkelbazillen.

Um zu prüfen, ob die Vorbehandlung von Meerschweinchen mit Blindschleichentuberkelbazillen, Bac. Moeller II und Tobler II, Actinomyces Eppinger und Actin. farcin Immunität gegen virulente Tuberkelbazillen erzeugt habe, wurden unsere Tiere in drei

Serien mit Tuberkelbazillen infiziert. In der ersten Serie erfolgte die Infektion mit grofsen Dosen, in Serie 2 und 3 mit sehr kleinen Mengen (Tab. XII—XIV). Die 3 verwendeten Kulturen waren menschlichen Ursprungs.

Tabelle XII.

1. Serie. Subkutane Infektion mit grofser Dosis Tb., aus einer Kartoffel Kultur stammend.

Benennung der Tiere	Vorbehandelt mit	Lebensdauer nach d. Injekt. mit Tb. in Tagen	Sektionsbefund
M. 34	Kontrolltier	89	Typische Tuberkulose
M. 13	Blindschleich. Tb.	146	» »
M. 18	Bac. Tobler II	78	» »
M. 1	Bac. Moeller II	80	» »
M. 22	Actin. Eppinger	55	Tuberkul. der Lungen, d. Netzes und der Drüsen
M. 16	Actin. Farcin	37	Lobuläre tbk. Pneumonie, Tuberkulose der Drüsen.

Tabelle XIII

2. Serie. Subkutane Infektion mit sehr kleiner Dosis Tb., aus tuberkulösem Eiter stammend.

Benennung der Tiere	Vorbehandelt mit	Lebensdauer nach d. Infekt. mit Tb. in Tagen	Sektionsbefund resp. Bericht über noch lebende Tiere.
M. 41	Kontrolltier	92	Typische Tuberkulose
M. 42	»	132	» »
M. 28	Blindschleich. Tb.	161*	Lebt noch. Keine Gewichtsabn. Drüsen nicht sicher fühlbar.
M. 39	»	161*	Lebt noch. Gewichtsabnahme. Links eine geschwollene Inguinaldrüse.
M. 20	Bac. Tobler II	14	Ileus. Alle Drüsen grofs, enthalten Tb.
M. 23	Actin. Eppinger	146	Typische Tuberkulose.
M. 24	» »	17	Alle Drüsen grofs, Todesursache unbekannt.
M. 17	Actin. Farcin	161*	Lebt noch. Gewichtsabnahme. Sehr grofse Inguinaldrüsen.
M. 27	» »	70	Tuberkul. m. geringer Verkäsung.
M. 12	Tuberculin vetus	128	Typische Tuberkulose.

*) Lebensdauer bis 13. III. 08 berechnet.

Tabelle XIV.

3. Serie. Subkutane Infektion mit sehr kleiner Dosis Tb., aus einer Agar-Kultur stammend.

Benennung der Tiere	Vorbehandelt mit	Lebensdauer nach d. Infekt. mit Tb. in Tagen	Sektionsbefund
M. 43	Kontrolltier	99	Typische Tuberkulose.
M. 36	Blindschleich. Tb.	139	Tod durch Bifswunden. Verkäsung der Inguinaldrüsen. Sonst keine Tbc.
M. 37	»	19	Ileus. Sehr geringe tbc. Veränderungen.

Aus den Tabellen XII—XIV geht hervor, dafs bei unseren mit verschiedenen tuberkuloseähnlichen Mikroorganismen vorbehandelten Tieren von einer eigentlichen Immunität noch nicht gesprochen werden darf, indem die meisten an der Tuberkuloseinfektion zugrunde gingen. Die Anzahl der überlebenden Versuchstiere und ihre bisherige Lebensdauer nach der Infektion mit Tb gestatten kein endgültiges Urteil. Eine längere Lebensdauer als die entsprechenden Kontrolltiere zeigten nur einige mit Blindschleichentuberkelbazillen und zwei mit Aktinomyzesarten immunisierte Meerschweinchen.

Im ganzen wurden 5 Meerschweinchen mit Blindschleichen-Tb vorbehandelt und zwar verschieden lange Zeit (s. Tabelle III). Meerschweinchen 13 erhielt innerhalb 10 Monaten 5 Agaroberflächen, Meerschw. 28 innerhalb $13^1/_2$ Monaten 4 Agaroberflächen abgetöteter Blindschleichen-Tb, während Meerschw. 36, 37 u. 38 in $1^1/_2$ Monaten mit je $1^1/_2$ Agaroberflächen behandelt wurden. Von diesen 5 Tieren starb das eine 19 Tage nach der Infektion mit menschlichen Tuberkelbazillen an Ileus und zeigte bei der Sektion sehr geringe tbc. Veränderungen. Zwei andere dieser Tiere starben nach 146 und 139 Tagen, d. h. 57 resp. 40 Tage später als die Kontrolltiere. Die 2 letzten Meerschweinchen sind 161 Tage nach der Tuberkuloseinfektion noch am Leben, das eine nahm in den letzten 2 Monaten um 30 g des Körpergewichtes ab und zeigt eine deutlich geschwollene Inguinaldrüse, während das andere, 850 g schwere Tier seit 3 Monaten ungefähr

dasselbe Körpergewicht aufweist und keine fühlbaren Inguinaldrüsen besitzt.

Das dritte, noch am Leben gebliebene Meerschweinchen (M. 17) gehört der Reihe der mit Aktinomyzesarten vorbehandelten Tiere an; es weist beiderseits grofse Inguinaldrüsenpakete auf und hat stark an Körpergewicht verloren, so dafs es in kurzer Zeit eingehen wird. Zwei andere mit Aktinomyzeten vorbehandelte Tiere erwiesen sich als auffallend wenig resistent gegen Tuberkelbazillen (Serie I) (Anaphylaxie?). Eine Mischinfektion von Aktinomyzes und Tuberkelbazillen kann nicht angenommen werden, da zwischen den letzten immunisierenden Injektionen und der Tuberkuloseinfektion ein Zeitraum von $2^1/_2$ und 4 Monaten verstrichen war. Ein anderes mit Aktinomyzes Eppinger vorbehandeltes Meerschweinchen lebte dagegen etwas länger als die nicht immunisierten Kontrolltiere, ging jedoch auch an generalisierter Tuberkulose zugrunde.[1])

Diese Kontrollinfektionen mit Tuberkelbazillen lehren ferner, dafs unsere positiven Agglutinations- und Komplementbindungsreaktionen höchstens ein Ausdruck stattgehabter Infektion, nicht aber erlangter Immunität sind.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Gegenseitige Entwicklungshemmung.

Die untersuchten säurefesten Mikroorganismen zeigen auf festen und flüssigen Nährböden kein antagonistisches Verhalten im Sinne der gegenseitigen Wachstumshemmung.

Die untersuchten Stämme der Säurefesten und Aktinomyzeten wuchsen auf Nährböden, auf denen schon einmal ein Bazillus derselben Gruppe gewachsen war.

2. Agglutination.

Die von uns geübte Methode der Agglutination von säurefesten Mikroorganismen und Aktinomyzeten hat sich für vergleichende Versuche als ungeeignet erwiesen, da die einzelnen

1) Über das Schicksal dieser noch lebenden Versuchstiere werden wir in einer späteren Mitteilung berichten.

Aufschwemmungen sehr verschieden leicht agglutinierbar waren. Es sind nur Versuche mit der gleichen Aufschwemmung und verschiedenen Seris, ungefähr zur gleichen Zeit ausgeführt, vergleichbar. Unsere Agglutinationswerte waren im allgemeinen niedrig. Am höchsten (1:100) wurden die homogenen Tuberkelbazillen agglutiniert, welche auch mit normalem Serum in der Verdünnung von 1:10 eine sehr deutlich positive Reaktion ergaben. Aktinomyzeten wie Säurefeste wurden im allgemeinen gleich gut durch die gleichen Sera agglutiniert, so dafs eine Unterscheidung auf diesem Wege nicht möglich war. Die Verwandtschaft aller untersuchten Mikroorganismen läfst sich mit der unsicheren Methode der Agglutination nicht beweisen.

3. Komplementbindung.

Eine Komplementbindung im Sinne von Bordet, Wassermann u. a. konnte beim Vermengen der Sera der vorbehandelten Tiere mit Extrakten der homologen, zur Immunisierung verwendeten Stämme (Tuberkelbazillen, andere Säurefeste und Aktinomyzeten) in den meisten Fällen nachgewiesen werden. Die Bindung trat mit heterologen Stämmen viel seltener ein; meistens waren die Resultate deutlich negativ, auch wenn der homologe Stamm positive Reaktion gezeigt hatte. Verschiedene Versuche, welche mit normalen Seris und verschiedenen Extrakten positive Resultate ergaben, zwingen, bei der Beurteilung von Komplementbindungsversuchen grofse Vorsicht und scharfe Kritik walten zu lassen. Die Spezifität der Reaktion mufs in Frage gestellt werden, indem auch mit Normalserum und Extrakt fast völlige Hemmung der Hämolyse beobachtet wurde. Für die Frage der Verwandtschaft der untersuchten Mikroorganismen lassen sich deshalb unsere Versuche nicht mit Bestimmtheit verwerten.

4. Gegenseitige Immunisierung.

Unsere wenigen Versuche genügen nicht zur Beantwortung der Frage, ob eine Vorbehandlung mit Säurefesten und mit Aktinomyzeten imstande ist, Meerschweinchen gegen virulente Tuberkelbazillen zu immunisieren. Immerhin können wir auf

Grund der erhaltenen Resultate angeben, dafs mit Bac. Moeller II und Tobler II, Actinomyces Eppinger und Actin. farcin vorbehandelte Meerschweinchen nach Infektion mit virulenten Tuberkelbazillen an typischer Tuberkulose erkranken. Die Lebensdauer nach der Infektion mit Tuberkelbazillen war eine verschiedene. Die Vorbehandlung mit Bac. Tobler II und Moeller II schien ohne Einflufs auf den Verlauf der Erkrankung zu sein. Auffallend ist der raschere Tod von zwei mit Aktinomyzeten immunisierten Tieren; möglicherweise liegt eine gewisse Anaphylaxie vor. Ebenso auffallend ist aber die deutlich verlängerte Lebensdauer der mit Blindschleichentb. vorbehandelten Meerschweinchen. Diese Beobachtung, welche in den kürzlich mitgeteilten Resultaten von Orth (l. c.) ihre Bestätigung findet, erscheint uns bedeutungsvoll und beweist, dafs das Problem der Immunisierung gegen Tuberkelbazillen mit anderen, avirulenten Stämmen nicht von vornherein als aussichtslos betrachtet werden darf.

Literatur.

1. St. Rosenblat, Diss. in ›Flora‹ od. allg. botan. Zeitung, Ergänzungsband 1905, Heft 2.
2. Zupnik, Prager med. Wochenschr. 1904, Nr. 45, 1906, Nr. 16.
3. Babes und Kalindero, Deutsche med. Wochenschr. 1901.
4. Ramond und Ravaut, Comptes rendus d. l. Soc. d. Biologie 1898.
5. Zupnik, Deutsches Archiv f. klin. Medizin 1903, Bd. 76.
6. Feistmantel, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXVI, Nr. 2.
7. Neufeld, Deutsche med. Wochenschr. 1903, Nr. 37.
8. Koch, Deutsche med. Wochenschr. 1897, Nr. 14.
9. Moeller, Zeitschr. f. Tuberkulose und Heilstättenwesen, Bd. V, Nr. 3. und Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 12.
10. Friedmann, Deutsche med. Wochenschr. 1897, Nr. 14, 1903, Nr. 26 u. 50, 1904, N. 5 u. 46, und Zeitschr. f. Tuberkulose und Heilstättenwesen, Bd. IV, Nr. 5, und Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXIV.
11. Orth, Ref. in Münchn. med. Wochenschr. 1907, Nr. 31.
12. Levy, Kongreſsberichte d. internat. Tuberkulosekongresses 1905 in Paris
13. C. Fraenkel, Hygien. Rundschau 1907, Nr. 18.
14. Nakayama, Archiv f. Hygiene, Bd. LVIII.
15. Askanazy, Ref. in Revue médicale de la Suisse romande, Jahrg. 26, Nr. 12.
16. Koch, Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 48.
17. Köppen, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXIV, S. 6.
18. Bendix, Deutsche med. Wochenschr. 1900, N. 14.
19. Jessen, Beiträge z. Klinik d. Tbc., Bd. V.
20. Thellung, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXII, Nr. 1.
21. Karwacki und Benni, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXXXII.
22. Rifsling, Zentralbl. f. Bakt., Bd. XLIV, Nr. 6.
23. Wassermann, Bruck, Neisser, Schucht, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. XXV, Heft 3.
24. Moreschi, Berliner klin. Wochenschr. 1907, Nr. 38.
25. Bruck und Wassermann, Berliner klin. Wochenschr. 1906.
26. Leuchs, Berliner klin. Wochenschr. 1907, Nr. 3 u. 4.
27. Marie und Levaditi, Annales de l'Institut Pasteur 1907, Nr. 2.
28. Gengou, Berliner klin. Wochenschr. 1906, Nr. 48.
29. Bruck und Wassermann, Deutsche med. Wochenschr. 1906.
30. Levy, Blumenthal, Marker: Zentralbl. f. Bakt., Bd. XLVI, Heft 3.
31. Baumgarten und Dibbelt: ›Arbeiten aus dem Gebiete der patholog. Anatomie und Bakteriologie‹, Bd. VI, Heft 1.

Lebensfähigkeit pathogener Keime in Kehricht und Müll.

Von

Kreisarzt Dr. **Hilgermann,**

Vorsteher des Medizinal-Untersuchungsamtes.

(Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Berlin und dem Kgl. Medizinal-Untersuchungsamt der Regierung zu Koblenz.)

I. Versuche mit Kehricht.

Bei der Frage der Übertragungsmöglichkeit pathogener Keime kommt sicherlich dem Kehricht eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zu, insofern er zahlreiche Ausscheidungen von Kranken, Verbandreste u. dgl. empfängt, mithin auch pathogene Keime beherbergen kann. Infolge seiner staubförmigen Beschaffenheit ist er auch ganz besonders geeignet, durch Haftenbleiben an Händen oder Kleidungsstücken verschleppt zu werden. Letztere Annahmen haben natürlich nur dann einen gewissen Anspruch auf Berechtigung, sobald erwiesen ist, dafs pathogene Keime sich längere Zeit im Kehricht lebensfähig zu erhalten vermögen. Die in dieser Richtung bisher angestellten Versuche sind teils spärlich, teils beziehen sie sich nur auf das Auffinden von pathogenen Keimen im Staub überhaupt oder sind mit sterilisiertem Staub oder Kehricht vorgenommen worden. Letzteres entspricht aber nicht den Verhältnissen der Wirklichkeit. Erfährt doch der Kehricht bei der Sterilisation sicherlich Veränderungen, die geeignet sind, andere Lebensbedingungen für die Haltbarkeit pathogener Keime zu schaffen.

Es schien mir daher wichtig genug, einmal zu untersuchen, wie sich pathogene Bakterien — Typhus, Paratyphus, Dysenterie, Pseudodysenterie, Cholera und Milzbrand — in ihrer Lebensfähigkeit in unverändertem Kehricht verhalten.

Was die Versuchsanordnung anbetrifft, so wurde aus Wohnzimmern zusammengefegter Kehricht in Reagenzgläschen in einer Höhe von ca. 7 cm aufgeschichtet und mit einer Platinöse der betreffenden, 24 Stunden alten Schrägagarkultur in der Weise geimpft, dafs die mit der Kultur beschickte Öse in senkrechter Richtung durch die lockeren Kehrichtschichten bis auf den Boden des Reagenzglases hinein- und auf demselben Wege zurückgeführt wurde. Die Reagenzgläschen blieben während der Dauer des Versuches bei Zimmertemperatur und diffusem Tageslicht aufbewahrt. Nach verschiedenen Zeitintervallen wurde der Inhalt je eines Röhrchens in ein ca. 10 ccm sterile Bouillon enthaltendes Erlenmeyerkölbchen geschüttet, die Bouillon mit dem Kehricht gründlich durchgemischt und von dieser Emulsion sofort mehrere Ösen oder Tropfen auf Drigalski-, bei Paratyphus auf Malachitgrün-Platten verstrichen.

Die nach 24 Stunden auf den Drigalski- resp. Malachitgrünplatten gewachsenen verdächtigen Kolonien wurden auf Agglutination (Serum-Verdünnung 1:100) im hängenden Tropfen geprüft und nach den üblichen Methoden weiter identifiziert.

Ferner wurden ca. 1 qcm grofse sterile Leinwandläppchen mit einer Aufschwemmung, die von einer 24 Stunden alten Schrägagarkultur hergestellt war, durchtränkt und in sterilen Petrischalen bis zur Trockne im Dunklen aufbewahrt, die mit der betreffenden Bakterienemulsion beschickten Läppchen wurden nunmehr auf eine ca. 4 cm hohe Kehrichtschicht im Reagenzglas gegeben und mit einer ca. 3 cm hohen Kehrichtschicht bedeckt und leicht durchgeschüttelt, so dafs das Läppchen auf allen Seiten von Kehricht umhüllt war. Nach verschiedenen Zeiten wurden diese Läppchen in steriler Bouillon aufgeschwemmt und, wie vorher beschrieben, untersucht.

Die Milzbrandsporenseidenfäden — deren Resistenz gegen strömenden Wasserdampf von 100° 3′ betrug — wurden in gleicher Weise wie die mit Kulturmaterial beschickten Läppchen dem Kehricht beigemischt. Nach verschieden langer Zeit wurden die Seidenfäden in Bouillon gebracht und durch 24 Stunden im Brutschrank bei 37° aufbewahrt. Ca. $^2/_3$ der Bouillon wurde auf weiße Mäuse intraperitoneal verimpft.

Die Untersuchungsbefunde sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengestellt:

Milzbrand.

Zeit	Versuchsmaterial	Resultat
6 Tage	Milzbrandsporenseidenfäden im Kehricht	+
12 »	» » »	+
19 »	» » »	+
24 »	» » »	+
41 »	» » »	+
59 »	» » »	+
85 »	» » »	+

Typhus.

Zeit	Versuchsmaterial	Resultat	Versuchsmaterial	Resultat
24 Stdn.	Zimmerkehricht mit Typhuskultur geimpft	+	Typhuskultur am Läppchen angetrocknet	+
4 Tage	do.	+	do.	+
10 »	do.	+	do.	+
16 »	do.	+	do.	+
22 »	do.	+	do.	+
25 »	do.	+	do.	+
36 »	do.	+	do.	+
42 »	do.	+	do.	+

Paratyphus B.

Zeit	Versuchsmaterial	Resultat	Versuchsmaterial	Resultat
5 Tage	Zimmerkehricht mit Paratyphuskultur geimpft	+	Paratyphuskultur am Läppchen angetrocknet	+
11 »	do.	+	do.	+
15 »	do.	+	do.	+
20 »	do.	+	do.	+
25 »	do.	+	do.	+
30 »	do.	+	do.	+
36 »	do.	+	do.	—
40 »	do.	+	do.	+
42 »	do.	+	do.	+
55 »	do.	+	do.	+
67 »	do.	+	do.	+
71 »	do.	+	do.	+
107 »	do.	+	do.	+

Dysenterie (Shiga).

Zeit	Versuchsmaterial	Resultat
6 Tage	Zimmerkehricht mit Shigakultur geimpft	+
11 »	» » » »	+
15 »	» » » »	+
20 »	» » » »	+
25 »	» » » »	+
30 »	» » » »	+
35 »	» » » »	+
40 »	» » » »	0
42 »	» » » »	+

Zeit	Versuchsmaterial	Resultat
3 Tage	Shigakultur am Läppchen angetrocknet	+
8 »	» » » »	+
13 »	» » » »	+
16 »	» » » »	0

Pseudo-Dysenterie (Flexner).

Zeit	Untersuchungsmaterial	Resultat
6 Tage	Zimmerkehricht mit Flexnerkultur geimpft	+
11 »	» » » »	+
15 »	» » » »	+
20 »	» » » »	+
25 »	» » » »	+
30 »	» » » »	+
32 »	» » » »	+
35 »	» » » »	+
40 »	» » » »	+
42 »	» » » »	0
55 »	» » » »	0

Zeit	Untersuchungsmaterial	Resultat
5 Tage	Flexnerkultur an Läppchen angetrocknet	+
10 »	» » » »	+
20 »	» » » »	+
25 »	» » » »	+
33 »	» » » »	+

Wie bereits vorn erwähnt, wurden die mit den Bakterien beschickten Kehrichtröhrchen bei Zimmertemperatur und diffusem Tageslicht aufbewahrt. Um weiterhin festzustellen, ob etwa Temperaturunterschiede auf die Lebensfähigkeit pathogener Keime von Einflufs seien, wurden die oben beschriebenen Versuchsreihen unter den verschiedensten Temperaturbedingungen:

a) bei Sonnenbestrahlung,
b) bei Kellertemperatur und
c) den Witterungseinflüssen im Freien ausgesetzt

wiederholt und nebeneinander vergleichend geprüft. Bei c) wurden die mit der Kultur geimpften oder mit den Läppchen beschickten Kehrichtröhrchen unverschlossen im Freien aufgestellt, so dafs sie sämtlichen Witterungseinflüssen zugänglich gemacht waren.

Die folgenden Tabellen, welche die Versuchsergebnisse zusammenfassend darstellen, lehren, dafs in meinen Versuchen Temperaturunterschiede oder Witterungseinflüsse die Lebensfähigkeit pathogener Keime im Kehricht nicht beeinträchtigen.

a) bei Sonnenbestrahlung (16°—24°).

Bakterienart	Kulturmaterial	Beobachtungsdauer	Resultat
Typhus	Zimmerkehricht mit Typhuskultur geimpft	bis zu 34 Tagen	während dieser Zeit +
Paratyphus	Zimmerkehricht mit Paratyphuskultur geimpft	bis zu 25 Tagen	während dieser Zeit +
Dysenterie	Zimmerkehricht mit Dysenteriekultur geimpft	bis zu 19 Tagen	vom 15. Tage ab nur noch vereinzelte Dys.-Kolonien auf den Platten, nach 19 Tagen negativ
Pseudodysenterie	Zimmerkehricht mit Pseudodysenteriekultur geimpft	bis zu 25 Tagen	während dieser Zeit +

Bakterienart	Kulturmaterial	Beobachtungsdauer	Resultat
Typhus	an Läppchen angetrocknetes Kulturmaterial	bis zu 23 Tagen	während dieser Zeit +
Paratyphus	do.	bis zu 25 Tagen	während dieser Zeit +
Dysenterie	do.	bis zu 19 Tagen	während 15 Tagen +, vom 15. bis 19. Tage nur noch sehr spärlich. Wachstum, nach 19 Tagen negativ
Pseudodysenterie	do.	bis zu 22 Tagen	während dieser Zeit +

b) bei Kellertemperatur (ca. 12°).

Bakterienart	Kulturmaterial	Beobachtungsdauer	Resultat
Typhus	Zimmerkehricht mit Typhuskultur geimpft	bis zu 22 Tagen	während dieser Zeit +
Paratyphus	Zimmerkehricht mit Paratyphuskultur geimpft	bis zu 25 Tagen	während dieser Zeit +
Dysenterie	Zimmerkehricht mit Dysenteriekultur geimpft	bis zu 19 Tagen	bis zu 12 Tagen +, nach dieser Zeit —
Pseudodysenterie	Zimmerkehricht mit Pseudodysenteriekultur geimpft	bis zu 25 Tagen	während dieser Zeit +
Typhus	am Läppchen angetrocknetes Kulturmaterial	bis zu 23 Tagen	während dieser Zeit +
Paratyphus	do.	bis zu 32 Tagen	während dieser Zeit +
Dysenterie	do.	bis zu 19 Tagen	während 15 Tagen +, vom 15. bis 19. Tage nur noch sehr spärliches Wachstum, nach 19 Tagen —
Pseudodysenterie	do.	bis zu 22 Tagen	während dieser Zeit +

c) in freier Luft (10°—23°).

Bakterienart	Kulturmaterial	Beobachtungsdauer	Resultat
Typhus	Zimmerkehricht mit Typhuskultur geimpft	bis zu 22 Tagen	während dieser Zeit +
Paratyphus	Zimmerkehricht mit Paratyphuskultur geimpft	bis zu 25 Tagen	während dieser Zeit +
Dysenterie	Zimmerkehricht mit Dysenteriekultur geimpft	bis zu 19 Tagen	bis zu 16 Tagen +, nach 16 Tagen —
Pseudodysenterie	Zimmerkehricht mit Pseudodysenteriekultur geimpft	bis zu 25 Tagen	während dieser Zeit +

c) in freier Luft (10°—23°).

Bakterienart	Kulturmaterial	Beobachtungsdauer	Resultat
Typhus	am Läppchen angetrocknetes Kulturmaterial	bis zu 23 Tagen	während dieser Zeit +
Paratyphus	do.	bis zu 32 Tagen	während dieser Zeit +
Dysenterie	do.	bis zu 19 Tagen	bis zu 15 Tagen +, vom 15. bis 19. Tage nur noch sehr spärliches Wachstum auf den Platten, vom 19. Tage ab —
Pseudodysenterie	do.	bis zu 22 Tagen	während dieser Zeit +

Bei den 3 letzten Versuchsreihen ebenso wie bei Versuchsreihe 4 (S. 223) zeigten die Dysenteriebazillen bereits nach 12 bis 15tägigem Aufenthalt im Kehricht sehr spärliches Wachstum, auf den Platten waren häufig nur 1—2 Kolonien ausgewachsen.

Grenzwerte der Lebensdauer der einzelnen Bakterien wurden nicht festgestellt, da dieses über den Rahmen der Arbeit hinausgegangen wäre. Von den Shigabazillen kann jedoch gesagt werden, dafs deren Lebensdauer bei Antrocknung an Gewebsstückchen und unter dem Einflufs verschiedener Temperaturbedingungen mit 19 Tagen Aufenthalt im Kehricht als erloschen anzusehen ist.

Cholera.

Die in derselben Weise angesetzte Versuchsanordnung, wie sie vorher beschrieben wurde, konnte nicht durchgeführt werden, da bereits nach 24 Stunden keinerlei Wachstum und Lebensfähigkeit der Choleravibrionen mehr zu erkennen war.

II. Versuche mit Müll.

War durch vorstehende Versuchsergebnisse dargelegt, dafs pathogene Bakterien, wie Typhus, Paratyphus B, Dysenterie, Pseudodysenterie und Milzbrand unter den verschiedensten Temperatureinflüssen längere

Zeit im Kehricht lebensfähig bleiben, so war weiterhin die Lebensfähigkeit dieser Bakterien im Müll zu prüfen. Mufste es doch bei der so verschiedenartigen und ständig wechselnden Zusammensetzung des Mülls sehr fraglich erscheinen, ob mit Kehricht in Müll hineingelangte pathogene Keime sich auch in letzterem weiter lebensfähig zu erhalten vermöchten. Küchenabfälle und dadurch bedingte Fäulnisprozesse, der gröfsere oder geringere Gehalt an Asche und Sperrstoffen, deren Anteil an der Zusammensetzung des Mulls sich zudem in den verschiedenen Jahreszeiten fortwährend ändert, bieten sicherlich im Gegensatz zu dem lockeren, sandigen Kehricht Bakterien ganz andere Lebensbedingungen.

Um den Verhältnissen der Wirklichkeit möglichst zu entsprechen, wurde der bei den folgenden diesbezüglichen Versuchen verwendete Müll in keiner Weise präpariert oder aussortiert, sondern in derselben Zusammensetzung benutzt, wie er gerade vor den Wohnhäusern aufgestapelt vorgefunden wurde. Eine gewisse Auswahl wurde jedoch insofern getroffen, als auf die verschiedenen Jahreszeiten und die einzelnen Bestandteile des Mulls Rücksicht genommen wurde, um festzustellen, welche Teile des Mulls fördernd, resp. hemmend für die Lebensfähigkeit der Bakterien sind. Die Mülleimer, in welche die bei den Versuchen zur Verwendung gelangenden Bakterien — Typhus, Paratyphus B, Dysenterie (Shigo) und Pseudodysenterie (Flexner) — gegeben wurden, waren die bei der betreffenden Müll-Abfuhrgesellschaft gebräuchlichen und fafsten einen Kubikgehalt von 0,18 cbm.

Als Testobjekte wurden 2 qcm grofse Leinwandläppchen, 3—6 qcm grofse Haderstoff- (Baumwolle-) Stückchen und 10 qcm grofse Zeitungs- oder Filtrierpapierstücke benutzt. Sämtliche Testobjekte wurden in mit sterilem Wasser erfolgte Abschwemmungen 24 Stunden alter Schrägagarkulturen gegeben und nach Durchtränkung der Objekte mit der Bakterienemulsion in Petrischalen ausgebreitet und im Dunklen bis zur Trockne aufbewahrt. Zum leichteren Wiederfinden in dem Müll waren die Testobjekte vor der Beschickung mit der Bakterienaufschwem-

mung an dünnem Draht befestigt und mit diesem zusammen sterilisiert worden. Nach verschiedenen Zeitintervallen wurden sodann die Läppchen, resp. das Papier an dem Draht aus dem Mull herausgezogen, die das Testobjekt haltende Drahtschlinge durchschnitten und dasselbe nach Aufschwemmung in Bouillon auf einer Drigalski- resp. Malachitgrünplatte hin- und herbewegt. Die auf der Platte haftengebliebene Bouillon wurde mit dem Drigalskispatel verstrichen.

1. Versuche mit aus Küchenabfällen bestehendem Müll.

Bei den folgenden Versuchen I—VI bestand der Inhalt der Mulleimer fast ganz oder zum gröfsten Teil aus Küchenabfällen. Waren Asche, Kehricht und Sperrstoffe mit vorhanden, so betrugen sie höchstens $^{1}/_{5}$—$^{1}/_{6}$ des Inhalts. Die Versuche wurden in den Monaten November, März und August ausgeführt, da ja naturgemäfs die verschiedenen Jahreszeiten verschiedene Zersetzungsprozesse der Küchenabfälle bedingen, was auf die Lebensfähigkeit pathogener Keime nicht ohne Einflufs bleiben kann. In dem Monat November konnten die Nachprüfungen bis zu 24 Tagen ausgedehnt werden. Nach 24 Tagen war der Inhalt der Mulleimer moderig zerfallen. Im Frühjahr waren schon nach 20 Tagen die Zersetzungsvorgänge beendet, und in den Sommermonaten war wegen der sofort aufserordentlich stark einsetzenden Fäulnis eine Untersuchung nur bis zu viertägiger Dauer möglich.

A. Typhusbazillen.

Lebensfähigkeit der Typhusbazillen bei Antrocknung an Leinwandläppchen war im Monat November bis zu 4 Tagen, im Monat März bis zu 3 Tagen vorhanden, im Monat August nur nach 1tägiger Dauer noch erhalten, nach 2 Tagen jedoch aufgehoben.

An Hadertuch und Papier angetrocknete Typhusbazillen waren schon nach 1tägigem Aufenthalt nicht mehr nachweisbar.

B. Dysenteriebazillen.

Dysenteriebazillen, an Leinwandläppchen, Hadertuch und Papierstückchen angetrocknet, wurden im Monat November in den aus Küchenabfällen bestehenden Müll gegeben. Die an Leinwand haftenden Dysenteriebazillen waren bis zu 4tägiger Dauer lebensfähig, die an Haderstoff und Papier angetrockneten hingegen schon nach 1 Tage abgestorben. Ebenso wie bei den Typhusbazillen verringerte sich die Lebensdauer der Dysenteriebazillen im Monat März auf 3 Tage und war im Monat August schon nach 1 Tage aufgehoben. Stets wurde zur Bestimmung der auf den Drigalskiplatten gewachsenen Kolonien die Agglutination im hängenden Tropfen benutzt, auch zur Nachprüfung Kulturen angelegt, welche sowohl biologisch — Mannitagar, Lackmusnutroselösung — als auch durch die Agglutinationsreaktion als Dysenteriekulturen bestimmt wurden.

C. Paratyphus B und Pseudodysenterie (Flexner).

Im Gegensatz zu Typhus- und Dysenteriebazillen war bei Paratyphus B- und Pseudodysenterie (Flexner)-Bazillen eine bedeutend längere Lebensdauer vorhanden. An Leinwand und Hadertuch angetrocknete Paratyphusbazillen waren bis zu 24 Tagen voll lebensfähig, an Zeitung angetrocknete bis zu 18 Tagen. Mit Pseudodysenteriebazillen waren nur Leinwandläppchen beschickt worden, an denen die Pseudodysenteriebazillen bis zu 20tägiger Aufenthaltsdauer lebensfähig nachgewiesen werden konnten. Letztere Angaben beziehen sich nur auf die Winter- und Frühjahrsmonate, im Sommer war aus äufseren Gründen wegen der einsetzenden Fäulnisprozesse die Ergebnisse längere Zeit zu verfolgen unmöglich. Zur Feststellung der öfters von den Kolonien angelegten Paratyphuskulturen wurde aufser der nochmaligen Agglutinationsprüfung die Impfung von Milch und Rotbergeragar, die Strichkulturen auf schräg erstarrter Gelatine bzw. das Herabgleiten der weifsen schleimigen Kulturauflagerungen, für Pseudodysenterie die Veränderung der Lackmusnutroselösung und des Mannitagars benutzt.

2. Versuche mit aus Asche bestehendem Müll.

Die unten angeführten Versuche (VII—XII) sind mit Müll vorgenommen, in welchem Küchenabfälle nicht vorhanden waren, sondern nur Asche, höchstens noch zu $^1/_5$ bis $^1/_6$ des Inhalts Kehricht, Papier und Sperrstoffe. Die Asche rührte zu gleichen Teilen von Steinkohlen und Briketts her. Auch bei diesen Versuchen wurden die verschiedenen Jahreszeiten berücksichtigt. Als Testobjekte kamen wie bei Versuchsreihe I mit den betreffenden Kulturen beschickte Leinwandläppchen, Hadertuch- und Filtrierpapierstücke zur Verwendung.

A. Typhusbazillen.

An den nach verschiedenen Zeitintervallen — durchschnittlich 4 bis 5 Tage Zwischenzeit — zur Untersuchung gelangten Leinwandläppchen waren Typhusbazillen bis zu einer Lebensdauer von 57 Tagen nachweisbar. Dafs die Lebensfähigkeit der Typhusbazillen in Asche aber eine noch viel gröfsere ist, zeigt nachfolgende Beobachtung: Von den mit Typhuskultur beschickten Hadertuchstückchen, an denen die Lebensfähigkeit der Typhusbazillen bis zu 44 Tagen — Grenzwerte wurden nicht festgestellt — mit positivem Ergebnis geprüft worden war, wurde durch Zufall lange Zeit nach Beendigung dieses Versuches — der Mülleimer hatte die Zeit über bei Zimmertemperatur gestanden — bei Vernichtung des zum Versuch verwendeten Mülls resp. der Asche ein Wolläppchen gefunden, von welchem nach Aufschwemmung in Bouillon und Ausstrich auf Drigalskiplatten eine Reinkultur von Typhus wuchs. Bei der Berechnung der Zeitdauer wurde festgestellt, dafs die an dem betreffenden Wolläppchen haftenden Typhusbazillen sich durch 115 Tage lebensfähig erhalten hatten.

An Filtrierpapierstreifen waren die Typhusbazillen durch 69 Tage, so lange waren Nachprüfungen vorgenommen worden, lebensfähig geblieben.

B. Dysenterie, Pseudodysenterie und Paratyphus B.

Die Lebensdauer der an Leinwand, Hadertuch und Filtrierpapier angetrockneten Dysenterie-, Pseudodysenterie- und Paratyphus B-Bazillen, welche bis zu 48 Tagen geprüft wurden, war bis zu 48tägigem Aufenthalt in Asche unverändert erhalten geblieben. Auch bei diesen Versuchsreihen konnten an Leinwand angetrocknete Paratyphusbazillen noch nach 136tägigem Aufenthalt in der Asche lebensfähig nachgewiesen werden. Nachprüfungen der von den Kolonien angelegten Kulturen erfolgten in derselben Weise, wie oben bereits angegeben.

In der nachfolgenden Tabelle ist die Lebensdauer der bei den Versuchen zur Verwendung gelangten Kulturen in den verschiedenen Bestandteilen des Mülls zusammenfassend dargelegt, wobei noch einmal hervorzuheben ist, dafs Grenzwerte der in die Asche gegebenen Bazillen nicht festgestellt worden sind, wohl aber in dem aus Küchenabfällen bestehenden Müll.

Zusammenfassende Tabelle.

Versuchsmaterial	Typhus	Paratyphus	Dysenterie	Pseudo-dysenterie
Müll aus Küchenabfällen bestehend	+ bis zu 4 Tagen	+ bis zu 24 Tagen	+ bis zu 5 Tagen	+ bis zu 20 Tagen
Müll aus Asche bestehend	+ nach 115 Tagen	+ nach 136 Tagen	+ nach 48 Tagen	+ nach 69 Tagen

Untersuchung des Staubes in der Umgebung der in Asche versenkten Typhustestobjekte auf Typhusbazillen.

Nach 21 tägigem Aufenthalt der Testobjekte in Asche wurde der an denselben haftende Staub leicht abgeklopft und auf einer Drigalskiplatte, welche mit etwas Bouillon vorher befeuchtet war, aufgefangen. Der haftengebliebene und angefeuchtete Staub wurde mit dem Drigalskispatel verstrichen. Nach 24 Stunden hatte ein massenhaftes Auskeimen von Typhuskolonien stattgefunden, welches Resultat lehrt, dafs der Staub, resp. die Asche in der nächsten Umgebung von mit Typhusbazillen infizierten Stoffstückchen infektionstüchtig ist.

Die nach 30, 35 und 44 Tagen wiederholten Versuche hatten dasselbe Ergebnis.

Schlufsfolgerungen.

1. In Stubenkehricht blieben unter den verschiedensten Temperaturbedingungen Typhusbazillen über 40 Tage, Paratyphus B-, Pseudodysenterie- und Milzbrandbazillen über 80 Tage lang lebensfähig. Grenzwerte der Haltbarkeit der einzelnen Bakterienarten waren nicht geprüft worden. Dysenteriebazillen, an Gewebsstückchen angetrocknet und Temperaturveränderungen ausgesetzt, starben nach 19 tägigem Aufenthalt im Kehricht ab.
2. Choleravibrionen waren nach Überimpfung in Kehricht resp. bei Antrocknung an Gewebsstückchen bereits nach 24 Stunden abgestorben.

3. In dem aus Kohlenasche bestehenden Müll hielten sich Typhus-, Paratyphus B-, Dysenterie- und Pseudodysenteriebazillen ganz besonders lange lebensfähig.
4. In dem aus Küchenabfällen bestehenden Müll blieben Typhus- und Dysenteriebazillen bis zu 4 resp. 3 Tagen, Paratyphus- und Flexnerbazillen bis zu 24 resp. 20 Tagen lebensfähig, d. h. mit diesem Zeitpunkt ist der Mull moderig zerfallen.
5. Staub in der Umgebung von den mit Typhus infizierten Stoffstückchen erwies sich als infektiös.

Herrn Geheimrat Rubner und Herrn Professor Ficker bin ich für die Förderung der Arbeit und gütigen Ratschläge zu ergebenstem Danke verpflichtet.

Mutation bei einem der Koligruppe verwandten Bakterium.

Von

Dr. **Arnold Burk**,

früherem Assistenten am Institute.

Mit 4 Photographien in natürlicher Gröfse.

(Aus dem Hygienischen Institut in Kiel. Geheimrat B. Fischer.)

Vor kurzem beschrieb R. Massini ein Bacterium coli mutabile, dessen Kolonien auf Endoschem Agar zunächst blafs wuchsen, beim Älterwerden aber knopfartige rotwerdende Erhebungen aufwiesen; legte er von diesen Knöpfen neue Reinkulturen an, so bildeten sich wieder blasse Kolonien, daneben aber auch völlig rote, ganz koliartige. Diese roten Kolonien veränderten sich bei Weiterimpfungen nicht mehr, hatten also eine neue Eigenschaft angenommen, es hatte eine Mutation stattgefunden.

Bei einer Frau in Itzehoe, die im Februar 1907 durch Genufs von Krabbengelee erkrankt sein sollte, konnte aus diesem ebensowenig wie aus Urin und Blut ein Krankheitserreger isoliert werden, dagegen züchtete ich aus dem Stuhle ein Stäbchen, das sich ähnlich verhielt wie dieses zuerst von M. Neisser[1]) bei der ersten Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie erwähnte, und später von dessen Schüler Massini[2]) eingehend beschriebene Bacterium coli mutabile.

Auf der mit Stuhl beschickten v. Drigalski-Conradischen Lackmus-Milchzucker-Agarplatte fand sich neben einigen

dafs der darunter liegende Nährboden berstet und auch in der Kolonie Gasbläschen innerhalb der Knöpfe auftreten, wie dies Figur 3 zeigt.

Auch konnte ich bei dem Massinischen Stamme keine Trennung in die Haupt- und die Randmasse beobachten. Dagegen schienen bei meinem Stamme die von dieser Randmasse abgeimpften Kolonien den Massinischen ähnlich zu sein, da sie nicht so hoch und üppig werden wie die von der Mitte abgenommenen. Jedoch ist die Beständigkeit dieser Eigenschaft leider nicht lange geprüft.

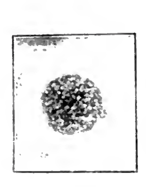


Fig. 2.

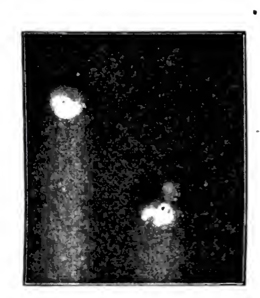


Fig. 3.

Beim Weiterimpfen von jungen knopflosen Kolonien oder von knopflosen Teilen der Knopfkolonien entstehen, wie gesagt, regelmäfsig blasse Kolonien mit den beschriebenen Eigenschaften. Beim Weiterimpfen von Knöpfen dagegen, einerlei ob in blassem oder rotem Zustande, entstehen immer von Anfang an stark rote Kolonien und helle nebeneinander, wie die Figur 4 zeigt. Nie zeigen sich dabei Übergänge zwischen roten und blassen. Berühren sich solche, so ist die Grenze absolut scharf, daher zeigt ein Impfstrich mit dicht nebeneinanderliegenden Kolonien eine eigentümliche Streifung, indem rot und hell unregelmäfsig miteinander abwechseln. Rote Kolonien entstehen also nur, wenn Knöpfchen abgeimpft wird. Bei der Fortzüchtung ist kein

Unterschied zwischen den Knöpfen der üppig wachsenden Mittelpartie und denen der zarteren Randpartie festzustellen.

Wenn die Knöpfe anfangen, rot zu werden, so erwecken sie den Eindruck, als schimmerte die rote Farbe zuerst aus der Tiefe durch, bis sie die Oberfläche erreicht.

Die auf v. Drigalski-Conradischem Nährboden entstandenen Knöpfe haben, auf Endoagar übertragen, hier dieselben Eigenschaften, als wären sie auf Endoagar entstanden und umgekehrt.

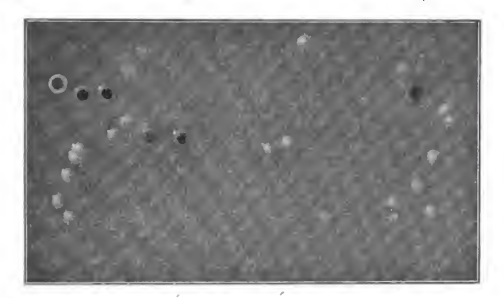


Fig. 4.

Die roten Kolonien blassen durch nachträgliche Alkalibildung nach 2—4 Tagen ab, werden sogar noch heller als die blassen Kolonien und sind von Anfang an etwas gröfser als diese.

Niemals bekommen die roten Kolonien Knöpfe.

Es gelingt nie, von den roten Kolonien, auch wenn sie abgeblafst sind, andere als rote Kolonien zu züchten.

Nur einzelstehende Kolonien können einwandfrei verwertet werden, da bei dichtem Wachstum die nachträgliche Alkalibildung so schnell eintritt, dafs nur die am Rande stehenden Kolonien schön rot sind.

Mein Bakterium verhält sich auf anderen Nährböden folgendermafsen:

Gelatine: Äufserst üppig. Der Belag der Strichkultur rutscht in die Kuppe hinab. Keine Verflüssigung.

Neutralrot-Traubenzucker-Agar: Gas und Verfärbung.

Milch: Bei 36° Gerinnung nach 5 Tagen.

Kartoffel: Stark schleimig, weifslich, Gasblasen innerhalb der Bakterienmasse.

Lackmusmolke: Rötung nach 48 Stunden.

Barsiekows Traubenzuckerlösung: Rötung und Gerinnung nach 48 Stunden.

Barsiekows Milchzuckerlösung: Am 2. Tage Rötung, klar bis zum 6. Tage, dann getrübt, aber keine Gerinnung.

Bouillon: Trübung.

Blutagar: Saftig, grauweifs, keine Hofbildung durch Veränderung des Blutfarbstoffes.

Agar: Saftig, weifslich, Sonderung in üppige Masse und zarteren Randteil.

Malachitgrünagar (Verdünnung 1:50000, die wir zu Typhusaussaaten benutzten): Saftig, weifs.

Indolbildung in Peptonwasser vorhanden.

v. Drigalski-Conradischer Agar in hoher Schicht: Vereinzelte kleine Gasbläschen.

Form: Kurze dicke Stäbchen, die sich nach Gram entfärben.

Auf anderen Kohlehydraten, durch die die Laktose des Endoschen Agars ersetzt wurde, wuchs es rot und mit Gasbläschen wie auf der Oberfläche des v. Drigalski-Conradischen Nährbodens: auf Dextrose, Galaktose, Lävulose, Maltose, Mannit und Raffinose; rot ohne Gasbläschen: auf Arabinose, Isodulzit und Saccharose; blafs: auf Inulin, Dextrin und Glykogen.

Aus den Mono-, Di- und Trisacchariden wird also Säure gebildet, nur dem Milchzucker gegenüber nimmt das Bakterium seine auffallende Sonderstellung ein. Die Gasbläschen in der Oberflächenkolonie, mit den Knöpfen nicht zu verwechseln und nur in der Minderzahl der Kolonien auftretend, sind offenbar

ein Ausdruck des ungestümen Wachstums und der damit verbundenen starken Zuckervergärung. Ich habe sie in seltenen Fällen auch bei anderen sehr üppig wachsenden Kolistämmen gesehen.

Ob eine Reinkultur vorliegt, das ist mir keine Frage, da es in fünf Monate dauernden Versuchen nie gelang, eine blasse Kolonie zu isolieren, aus der nicht rote gezüchtet werden konnten, obgleich diese nie von Anfang in der Kolonie nachzuweisen waren. Eine der Knopfbildung auf den ersten Blick ähnliche Form sah ich nur einmal bei Kokken. Es liefsen sich aber zwei Arten daraus leicht trennen, und bei Weiterzüchtung entstand nie mehr diese Form des »Aufeinandersitzens«.

Die roten Kolonien unterscheiden sich von den blassen aufser auf den Endoschen und v. Drigalski-Conradischen Nährböden noch in folgenden Punkten: Milch gerinnt schon in 48 Stunden, ebenso Barsiekows Milchzuckerlösung; in hoher Schicht des v. Drigalski-Conradischen Agars sehr kräftige Gasentwicklung; sie verhalten sich also durchaus wie Bacterium coli.

Aus derselben Stuhlprobe waren noch zwei Kolikolonien abgestochen worden, von denen die eine mit dem roten Stamme übereinstimmte, die andere und eine aus dem Urine gezüchtete abwichen (vergl. A. Burk, Untersuchungen über die Bakterien der Koligruppe, Tabelle II: Typus 9—458,2; Typus 29—458,3; Typus 28—459).

Ich versuchte auch spezifisch agglutinierende Sera zu bekommen, konnte jedoch, wie bei den meisten Kolistämmen, auch hier keine hohen Werte erreichen.

Abgetötete Aufschwemmungen von blassen Kolonien meines Stammes spritzte ich drei Kaninchen in die Ohrvenen. Die Sera dieser Tiere agglutinierten diese Bakterien aber nur bis zu 100-, oder 50-, oder 30facher Verdünnung, in diesen Verdünnungen allerdings recht stark, während die nächst höheren keine Andeutung dazu zeigten. Der Massinische Stamm wurde davon nicht beeinflufst.

Bei Behandlung eines Kaninchens mit Aufschwemmungen von roten Kolonien meines Stammes konnte ich überhaupt kein agglutinierendes Serum erzielen (1 : 30 = 0).

Mit dem Stamme Massinis erhielt ich ein Kaninchenserum, das diesen Stamm bis zu 200facher Verdünnung agglutinierte, meinen Stamm dagegen nicht.

Bei allen derartigen Versuchen ist ja nun zu bedenken, dafs auch sonst Kolistämme, selbst wenn sie in ihren Kulturmerkmalen ganz übereinstimmen, sich doch gegen spezifische Sera verschieden verhalten, wie auch in meiner angeführten Arbeit näher ausgeführt ist.

Ich habe also bei den beschriebenen Bakterien eine gleiche Umwandlung beobachtet, wie Massini bei seinem sonst etwas davon verschiedenen »Bacterium coli mutabile«. Massini scheint mir dies mit vollem Recht als Mutation im Sinne von Hugo de Vries zu deuten, und so mag mir wohl erlassen bleiben, seine ausführliche Begründung zu wiederholen.

Ohne durch eine andere Namengebung Unordnung schaffen zu wollen, möchte ich doch noch darauf hinweisen, dafs wir es streng genommen — in dem Massinischen wie in meinem Falle — nicht mit einem Bacterium coli zu tun haben, sondern mit einem der Koligruppe verwandten Stäbchen, welches erst durch die Mutation in ein von Bacterium coli nicht mehr zu unterscheidendes Bakterium verwandelt wird.

Für das freundliche Interesse an dieser Arbeit sage ich Herrn Geheimrat Bernh. Fischer aufrichtigen Dank; auch Herrn Dr. Reiner Müller für manchen Wink und Beistand, insbesondere bei Herstellung der Photogramme.

Literatur.

1. Neisser M., Ein Fall von Mutation nach de Vries bei Bakterien. 1. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin, 9. Juni 1906. Zentralbl. f. Bakt., I. Abt., Referate Bd. 38, Beiheft S. 98.
2. Massini R., Über einen in biologischer Beziehung interessanten Kolistamm (Bacterium coli mutabile). Ein Beitrag zur Variation bei Bakterien. Arch. f. Hyg., 1907, Bd. 61, S. 250.
3. Burk A., Untersuchungen über Bakterien der Koligruppe. Zentralblatt f. Bakt., I. Abt., Orig.-Bd. 45, 1907.

Methoden zur Darstellung von Spirochäten und Trypanosomen in Organschnitten.

Von

Dr. **Max Gottberg**, Berlin.

Mit Tafel I und II.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Bisher sind die Untersuchungen über die Verbreitung der Spirochäten in den Organen fast ausschliefslich beschränkt geblieben auf die in den letzten beiden Jahren viel versuchten Silberimprägnationsmethoden. Zweifellos gelingt es auf diese Weise Spirochäten in Organschnitten sehr scharf zur Darstellung zu bringen.

Wer die Silberimprägnationen genauer kennt, mufs von ihnen erwarten, dafs sie ebensogut wie sie Zellen, Kerne, Kernkörperchen und alle faserigen Gewebsbestandteile mit überraschender Schärfe zur Anschauung bringen können, so auch fremde Elemente in den Geweben, wie Spirochäten, Trypanosomen und Bakterien uns deutlich zeigen werden.

Aber gerade diese universelle Darstellung aller Strukturdetails erschwert uns leider oft genug eine sichere Beurteilung der vorgefundenen Bilder, und je erfahrener man mit Silberimprägnationen ist, desto vorsichtiger wird man in deren Deutung. Darum ist es zweckmäfsig, Silberbilder durch in ihrer Farbwirkung genau bekannte Farbstoffe zu kontrolieren.

Für Spirochäten haben Versuche in dieser Richtung bisher noch keine genügenden Resultate gehabt.

Die Schmorlschen Präparate von Spirochaeta Pallidamaterial geben gute Spirochätenbilder, doch erscheint das Gewebe der von mir untersuchten Originalpräparate nicht distinct gefärbt und kann histologischen Ansprüchen nur wenig genügen.

Ich will nun zunächst meine Erfahrungen über Spirillosematerial mitteilen.

Zur Verfügung hatte ich spirochaete gallinarum in Hühnerorganen, sowie amerikanische Recurrens und Tickfiebermaterial von geimpften Mäusen. Dieses Material habe ich mit folgenden Fixierungsmitteln behandelt: Zenkersche Flüssigkeit, Pikrin-Sublimatessigsäure, Carnoysches Gemisch und Formalin; mit allen diesen Fixierungsmitteln gelingt es, Spirochäten gut zu fixieren. Umfangreiche Erfahrungen habe ich bisher nur über Zenkersche Flüssigkeit und Formalin, die ich zur Fixierung durchaus empfehlen kann.

Mit diesen Flüssigkeiten waren auch die meisten Objekte behandelt, von denen Schnitte im folgenden zur Besprechung und Darstellung kommen werden. Eingebettet wurde mein Material stets in Paraffin.

Zunächst habe ich Versuche mit Giemsalösung angestellt, und zwar habe ich die sog. alte Giemsalösung verwendet, einen Tropfen auf 1 ccm destillierten Wassers; ich habe diese Farblösung in die üblichen Farbgläser gegossen, Schnitte von 5 μ Dicke hineingestellt und liefs sie 2—3 Tage bei Zimmertemperatur darin, dabei bildet sich auf dem Boden des Farbgläschens ein wolkiger Niederschlag, während die darüber stehende Farblösung meist klar bleibt. Die Objektträger werden nach der Färbung in destilliertem Wasser abgespült, dann besichtigt man das Präparat unter dem Mikroskop, um sich über Farbstoffniederschläge und ev. Überfärbung zu orientieren.

Alsdann wird der Objektträger in 95proz. Alkohol für kurze Zeit gebracht (3—10 Sekunden); mir erwies sich das Präparat als gut, wenn die Objekte so lange in Alkohol blieben, bis die Umgebung der Schnitte eben nahezu rein von Farbstoff erschien. Hierauf spülte ich die Schnitte ganz kurz in absolutem Alkohol ab und führte sie dann in Xylol über. In Xylol können die

Objekte beliebig lange bleiben, während die Durchführung durch Alkohol sehr sorgfältig abgepafst werden mufs, um nicht zu stark zu differenzieren. Will man diese gefärbten Schnitte für längere Zeit aufheben, dann empfiehlt es sich, wie bekannt, sie in Cedernöl einzubetten, in Kanadabalsam wird der Farbstoff aus den Spirochäten oft sehr schnell extrahiert. Mit dieser Methode gelang es mir, schöne histologische Bilder zu erhalten und die Spirochäten oft sehr gut sichtbar zu machen, sie färben sich rötlichblau.

Die Unbeständigkeit der Giemsafärbung veranlafste mich zu weiteren Versuchen und diese führten mich bei der Anwendung von Eisenalaun und Hämatoxylin zu guten Resultaten; es ist dies die allen Histologen genau bekannte und von allen sehr geschätzte Heidenhainsche Färbung. Sie stellt uns mit grofser Schärfe das Chromatin dar und färbt bei richtiger Differenzierung gleichzeitig schwächer das Protoplasma. Hiermit erhielt ich die gut photographierbaren Bilder, die auf den beigegebenen Tafeln nachgebildet sind. Ich habe einige dieser Bilder zur Veröffentlichung ausgewählt, weil sie uns den nach meinen Untersuchungen sehr ausgiebig benutzten Ausscheidungsweg der Spirochäten durch die Nieren in lückenloser Weise zur Darstellung bringen.

In der Figur 1 sehen wir einen Glomerulus bei ca. 1080facher Vergröfserung und im Glomerulus-Kapselraum freiliegend zwei deutliche Spirochäten. Im Originalpräparat sieht man bei der Einstellung in verschiedenen Ebenen sechs deutliche Spirochäten, die in der Glomeruluskapsel liegen und zum Ausführungskanal hinzuschwimmen scheinen; leider läfst sich dieses Bild auf der photographischen Platte nicht fixieren. Des weiteren sehen wir auf Figur 2 eine deutlich photographierte Spirochäte in einem Harnkanälchen mit gut erhaltenem Epithel, in Figur 3 eine Spirochäte in einem Harnkanälchen, dessen Epithel durch die Krankheit schwer gelitten hat; endlich zeige ich in Figur 4 zahlreiche Spirochäten in einem Blutgefäfs der Leber; alle diese Präparate waren nach derselben Methode gefärbt. Mitunter findet man Harnkanälchen voll von Spirochäten. Die Resultate dieser

Färbung nach Haidenhain haben den Vorzug, dafs sie sich dauernd gut gefärbt erhalten.

Die Färbung wird am besten folgendermafsen ausgeführt: Die Schnitte kommen durch Xylol und Alkoholreihe in destilliertes Wasser, alsdann auf 24 Stunden in $2^1/_2$ proz. Lösung von Eisenalaun, hierauf werden sie in destilliertem Wasser abgespült und kommen dann auf 1—2 Tage in Weigertsches Hämatoxylin, darauf kommen die Schnitte nach Abspülung in destilliertem Wasser zur Differenzierung in eine $^3/_4$ proz. Eisenalaunlösung, die auch bis 2% verstärkt werden kann. Hierin bleiben die Schnitte einige Minuten; die Differenzierung wird am besten unter dem Mikroskop kontroliert; erscheinen in Blutgefäfsen die Blutkörperchen eben deutlich, dann mufs mit der Differenzierung aufgehört werden; das Präparat kommt für beliebig lange Zeit in Leitungswasser, mindestens eine halbe Stunde, dadurch bekommt das Chromatin einen schönen blauschwarzen Farbton.

Immerhin ist diese für Zellstudien so glänzende Methode für die dünnen Spirochäten nicht ganz leicht zu handhaben und würde sich der Ungeübte durch manche Fehlschläge von weiteren Versuchen nicht abhalten lassen dürfen.

Im Anschlufs an diese Heidenhainsche Färbung habe ich dann das Eisenhämatoxylingemisch nach Hansen erprobt und hat mich diese Methode bei aufserordentlich leichter Ausführbarkeit zu guten Resultaten geführt, so dafs ich diese Modifikation der Heidenhainschen Färbung auch selbst für jeden Anfänger ohne technische Erfahrung nicht warm genug empfehlen kann. Die Färbung der Präparate ist oft schon nach einem Aufenthalt von wenigen Minuten in der Farblösung gelungen, doch empfiehlt es sich, die Objekte versuchsweise 15 bis 30 Minuten in der Farbe zu lassen und auszuprobieren, wie sich am schärfsten die Spirochäten in der histologisch-klaren Umgebung darstellen. Eine Überfärbung, die das schöne histologische Bild zerstören würde, ist alsdann noch nicht eingetreten. Ist aber durch zu langen Aufenthalt in der Farblösung wirklich eine Überfärbung des Schnittes eingetreten, so läfst er sich leicht

durch 1—2 proz. Eisenalaunlösung oder dünne Schwefelsäure oder Essigsäure wieder differenzieren.

Die Eisenhämatoxylinlösung nach Hansen wird folgendermafsen hergestellt:

1. 10 g Eisenalaun werden in 150 ccm warmen destillierten Wassers gelöst,
2. wird 1,6 g Hämatoxylin puriss. cryst. in 75 ccm warmen Wassers gelöst,

dann läfst man beide Lösungen abkühlen und hierauf wird die Eisenalaunlösung langsam unter stetem Umrühren in die Hämatoxylinlösung gegossen. Alsdann wird diese Mischung in einem Kolben eine Minute gekocht; die Farbmischung mufs dann dunkelbraun aussehen und sauer reagieren.

Für die von mir untersuchten Spirillosen sind alle angegebenen Methoden brauchbar und geben tadellose histologische Bilder.

Ich komme nun zu der Darstellung der Trypanosomen in Organschnitten. Diese Frage ist, soweit mein bisher bearbeitetes Material ein Urteil zuläfst, sehr leicht zu behandeln und die pathologisch-anatomischen Untersuchungen nach dieser Richtung werden voraussichtlich keinen Schwierigkeiten begegnen. In der Literatur finde ich folgende Mitteilungen über den zu behandelnden Gegenstand. Marchand und Ledingham machen in einer Arbeit über Infektion mit Leishmanschen Körperchen und ihr Verhältnis zur Trypanosomen - Krankheit Angaben über Untersuchung trypanosomenkranker Ratten. Sie fixierten mit Müller + Formol und Alkohol, färbten mit Hämatoxylin, Gieson, Fuchsin und Methylenblau.

Naporatny und Jakimoff teilen ihre Fixierung nach Flemming und Färbung mit Safranin oder Indigokarmin mit. Halberstaedter aus der Neisserschen Klinik fixiert mit Sublimateisessig und bevorzugt als Färbung polychromes Methylenblau, bemerkt dabei aber, dafs die Schnitte auf diese Weise stark überfärbt und nicht gut differenziert erscheinen.

Morax teilt in den Annales de l'institut Pasteur Untersuchungen über Keratitis diffusa von Dourinehunden mit: er fixiert mit Formol, Formolpikrinsäure und Flemmings Gemisch, färbt mit Eosinorange und darauf mit Toluidinblau; diese Färbungen sind nach seiner Angabe nicht beständig.

In letzter Zeit machen dann noch Rodet und Vallet in einer sehr umfangreichen experimentellen Arbeit über Trypanosomenkrankheiten Mitteilungen von histo pathologischen Untersuchungen ihrer Versuchstiere. Sie scheinen im wesentlichen mit Giemsalösung gefärbt zu haben.

Auf einige Resultate der citierten Arbeiten werde ich am Schlusse meiner Mitteilungen noch zurückkommen.

Ich habe zu meinen Untersuchungen lediglich Organe naganakranker Mäuse verwendet. Die Tiere wurden von mir möglichst auf der Höhe der Infektion, die durch sehr zahlreichen Parasitenbefund in Blutausstrichen festgestellt war, getötet. Die Organe wurden in Zenkerscher Flüssigkeit, Pikrinsublimatessigsäure, Carnoyschem Gemisch, sowie in Formalin fixiert; Osmium und Osmiumplatingemische habe ich bisher nicht versucht, weil eine gute Nachfärbung nach diesen ausgezeichneten Fixierungsmitteln umständlich und nicht ganz leicht auszuführen ist.

Die besten Trypanosomenbilder lieferten mir nach der Färbung Objekte aus Zenkerscher Flüssigkeit, so dafs ich in der letzten Zeit lediglich dieses Material bearbeitet habe, doch erhält man auch nach den übrigen Fixierungen gut brauchbare Resultate.

Die Färbung der Schnitte führt mit Hämatoxylin, Hämateïn, Heidenhains Eisenhämatoxylinfärbung, sowie mit Eisenhämatoxylin nach Hansen zu guter Kernfärbung der Trypanosomen, der Blepharoplast ist auf diese Weise gleichfalls oft darzustellen, auch erscheinen die Protoplasmakörper mehr oder weniger zart gefärbt und die Geissel ist deutlich erkennbar. Die undulierende Membran ist wohl als Folge der Fixation, bei der die Organismen nicht unerheblich schrumpfen, selten deutlich. Auch mit Giemsalösung läfst sich in derselben Weise, wie für Spirochäten oben angegeben, eine gute Färbung der Schnitte und

Organismen erzielen. Will man das Protoplasma der Trypanosomen noch besonders nachfärben, so eignen sich hierfür die üblichen Protoplasmafarben, Orange G, van Giesongemisch (Rubin + Pikrinsäure), Eosin. Auch Silberimprägnationen habe ich mit gutem Erfolge ausgeführt.

Die Befunde, die man mit den angegebenen Methoden erzielt, sind exakt zu deuten und ist die histologische Darstellung der Gewebe stets eine sehr gute, insbesondere gaben fast alle von mir geübten Färbungen gute Dauerresultate. Es empfiehlt sich, wegen der Gröfse der Organismen nicht zu dünne Schnitte zu machen — im allgemeinen genügen 5 μ — sonst erhält man wegen der vielen Bruchstücke und Querschnitte der Parasiten nicht so schöne Übersichtsbilder.

Es ist erstaunlich, bis zu welchem Grade das Gefäfssystem der Versuchstiere mit diesen Organismen überschwemmt sein kann, ohne dafs die Tiere sterben. Es erscheinen oft in Gefäfsquerschnitten mehr Trypanosomen als Blutkörperchen und an manchen Stellen ist fast in jeder Kapillare mindestens ein Trypanosom im Schnitt getroffen. Daraus geht hervor, dafs diese Organismen keine für den Mäusekörper nennenswerten Giftstoffe absondern und den Blutstoffwechsel nur in mäfsigem Grade beeinflussen können; sterben ja auch die Tiere oft genug plötzlich unter apoplektischen Erscheinungen bei anscheinend noch gutem Allgemeinzustand, wohl durch Embolicen von Trypanosomenkonglomeraten. Die Verbreitung im Cirkulationssystem sollen die beiden photographischen Figuren 5 und 6 illustrieren; bei Figur 5 handelt es sich um ein Segment eines gröfseren Lebergefäfses, das wir ganz angefüllt sehen mit Trypanosomen, so dafs die Blutkörperchen fast zurücktreten, bei Figur 6 gebe ich ein Bild von einem Leberkapillarbezirk; wir sehen fast in jeder Kapillare vereinzelte Trypanosomen. Eine ziemlich gleichmäfsige Verteilung der Trypanosomen habe ich auch in den Gefäfsen der Lunge und Niere gefunden.

Zu den Resultaten der vorhin citierten Autoren will ich nun noch einiges bemerken. V. Morax gibt von seinen Unter-

suchungen der Keratitis diffusa dourinekranker Hunde neben normalen sehr stark veränderten Trypanosomenbilder aus der cornea, ich habe solche Bilder bei meinen Untersuchungen noch niemals angetroffen; in den bulbi der von mir untersuchten Tiere habe ich Trypanosomen nur in den Gefäfsen gefunden, insbesondere waren die auch makroskopisch gut aussehenden corneae gänzlich frei von Trypanosomen. Es ist die keratitis diffusa wohl auch meist eine Teilerscheinung der subakuten und mehr chronischen Erkrankungsformen gröfserer Tiere; Mäuse sterben aber fast ausnahmslos schon am vierten bis sechsten Tage nach intraperitonealer Infektion.

In den inneren Organen habe ich bisher Trypanosomen nur in den Gefäfsen gefunden, abgesehen von der Milz, deren eigentümliche Anordnung der Cirkulationswege aber den extravasculären Befund leicht erklärt.

Eingehender will ich mich noch mit den neuerlichen Untersuchungen von Rodet und Vallet über die Bedeutung der Milz für die Trypanosomenkrankheiten beschäftigen. Die Resultate dieser Forscher haben zu einer lebhaften Controverse mit Laveran und Thiroux geführt. Rodet und Vallet kamen zu folgenden Resultaten: in Milzausstrichen fehlen normal aussehende Parasiten, nur runde und elliptische Elemente von der Gröfse der Trypanosomenkerne finden sich; erkennbare Parasiten sahen sie nur, wo rote Blutkörperchen lagen. Schnitte durch die Milz gaben keine guten Resultate; sie schreiben wörtlich: »les coupes de rate ne nous ont pas donné en général de bons résultats. Elles nous ont montré des noyaux libres parmi les cellules de la pulpe mais jamais de trypanosomes reconnaissables ni dans ces points ni même dans les vaisseaux sanguins, dont le contenu était toujours altéré.«

Einmal fanden die Autoren zahlreiche Parasiten in Milzausstrichen, dabei aber auch sehr zahlreiche Bakterien, die als Grund für die Konservierung der Parasiten angesehen werden, die doppelte Infektion besiegte, wie sie meinen, die Schutzkraft der Milz.

Im allgemeinen finde vorzugsweise in der Milz eine Zerstörung der Parasiten statt, durch extracellulär sich abspielende Trypanolyse, wobei die Phagocytose nur eine ganz untergeordnete Rolle spiele.

Dem gegenüber haben Laveran und Thiroux durch Untersuchung von Milzausstrichen, sowie experimentelle Prüfung des Milzextrakts und Infektion von Tieren, denen vorher die Milz exstirpiert war, nachgewiesen, dafs der Milz auf den Verlauf der Trypanosomenkrankheit und auf die Zerstörung der Organismen kein wesentlicher Einflufs zuzuschreiben ist.

Ich selbst kann die Resultate von Laveran und Thiroux nur vollständig bestätigen. Fanden sie in frischen Milzausstrichen stets Trypanosomen, so bringe ich hier in Figur 7 einen photographierten Milzquerschnitt, in dem wir sehr wohl erhaltene Trypanosomen fast in Reinkultur vorfinden; ich will dem noch hinzufügen, dafs die Herstellung gutgefärbter Milzschnitte gar keine Schwierigkeiten bietet, und dafs die Deutung der Bilder bei genauer Kenntnis der Cirkulationsverhältnisse der Milz sehr einfach ist.

Zum Schlufs will ich noch einmal bemerken, dafs meine Bestrebungen dahin gerichtet waren, neben der Darstellung der Parasiten, Spirochäten und Trypanosomen, eine gute Färbung der Schnittelemente zu erzielen, und dafs alle von mir angegebenen Färbungen zu diesem Resultat führen.

Die Mikrophotogramme auf den beigegebenen Tafeln vermögen die erzielbaren Resultate nur andeutungsweise wiederzugeben, doch wird die Lage der Mikroorganismen — gegenüber Zeichnungen — um so einwandsfreier dargestellt.

Über Ausatemluft.

Von

Privatdozent Dr. **Wolfgang Weichardt.**

(Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institute der Universität Erlangen.
(Direktor: Prof. Dr. Heim.)

Durch die grundlegenden Untersuchungen von Pettenkofer sind bekanntlich alle für die hygienische Beurteilung verbrauchter Luft mafsgebenden Grundprinzipien wissenschaftlich festgelegt.

Als Kriterium für Beurteilung der durch Atmung von Menschen verdorbenen Luft hat der Altmeister der Hygiene deren Promillegehalt an Kohlensäure aufgestellt.[1])

Die Zunahme der ja quantitativ aufserordentlich genau zu bestimmenden Kohlensäure hielt Pettenkofer zugleich für den besten Gradmesser der Zunahme auch noch anderer etwaiger Verunreinigungen ausgeatmeter Luft.

Auffallend blieb die Tatsache, dafs ein Gehalt der Luft an reiner Kohlensäure bis zu 10‰ nicht direkt schädlich wirkt, während doch, wie Pettenkofer hervorhebt, Luft als schlecht und für einen beständigen Aufenthalt als untauglich zu erklären ist, wenn sie infolge der Respiration und Perspiration von Menschen mehr als 1‰ Kohlensäure enthält.[24])

Somit lag es nahe, zu vermuten, ob nicht aufser der Kohlensäure noch andere Stoffe und Verhältnisse für die durch Anwesenheit vieler Menschen zweifellos bedingte besonders hochgradige Luftverschlechterung in geschlossenen Räumen verantwortlich gemacht werden müssen.

An der Lösung dieser Frage haben sich bekanntlich die besten Köpfe auf dem Gebiete der Hygiene und Physiologie beteiligt. Und doch hat eine definitive, befriedigende Lösung sich noch immer nicht finden lassen.

Die strittige Frage ist m. E. etwa so zu formulieren:

Wird die Abweichung von der wissenschaftlich exakten Feststellung, dafs die Luft sogar bei einem Gehalt von 10‰ reiner Kohlensäure nicht schädlich wirkt, durch die uns bekannten, chemisch gut definierbaren Beimengungen bedingt, oder ist man genötigt, für diese Abweichung Stoffe verantwortlich zu machen, die durch unsere Untersuchungsmethoden nicht oder nicht genügend sicher erkannt werden können?

Das Suchen nach solchen Stoffen zieht sich bekanntlich wie ein roter Faden durch alle die zahlreichen Forschungen, welche nach dieser Richtung hin im Laufe von Jahrzehnten angestellt worden sind.

Schon 1879 veröffentlichten Seegen und Nowack[2]) eine Arbeit, in der die Meinung ausgesprochen wurde, es müsse der Mensch unbedingt auch organische, durch Atzkali nicht absorbierbare Stoffe ausatmen, die nach der Wiedereinatmung giftig wirken.

Besonders aber waren es die ausgedehnten Untersuchungen von Brown-Secquard und d'Arsonval[3]), durch welche der Beweis erbracht schien, dafs die Lungen des Menschen sowie die des Hundes und Kaninchens fortgesetzt ein heftiges Gift erzeugen, welches neben der Kohlensäure mit der Ausatmungsluft nach aufsen gelange. Dieses Gift könne keinesfalls das in so minimalen Mengen, wie es in der Ausatemluft auftrete, durchaus unschädliche Ammoniak sein, es müsse sich vielmehr um ein den Alkaloiden ähnliches heftiges Gift handeln, welches die besondere Schädlichkeit menschlicher Ausatemluft in geschlossenen Räumen bedinge.

Zu ganz ähnlichen Resultaten wie Brown-Secquard ist S. Merkel[4]) gekommen. Auch er folgert auf Grund seiner Versuche, in der Ausatemluft müsse eine flüchtige Base sein.

Ganz im Gegensatz von diesem nahm H. Hermanns[5]) an, die besondere Verderbnis der menschlichen Atemluft sei veranlafst durch unvermeidliche Beimischung von Darmgasen und Abscheidungserzeugnissen der Körperoberfläche, z. B. schmutzige Haut, Kleider, Schuhwerk usf. Er behauptete, dafs der Mensch keine nennenswerten Mengen flüchtiger verbrennlicher Stoffe an die Luft abgäbe.

In einer experimentellen Studie hat dann Formánek[6]) alle Veröffentlichungen über Atemluft bis zum Jahre 1900 kritisch zusammengestellt und auch eigene Versuche veröffentlicht. Er kommt, wie vor ihm Dastre und Loye[7]), Hoffmann, v. Wellenhof[8]), Geyer[9]), Russo, Giliberti und Alessi[10]), Lehmann und Jessen[11]), zu der Schlufsfolgerung, dafs die Vergiftungserscheinungen, welche manche Forscher, so Brown-Secquard, d'Arsonval, Merkel, Wurtz u. a. bei ihren Experimenten mit Ausatemluft und Kondenswasser derselben beobachtet haben, auf die Wirkung von Ammonverbindungen zurückgeführt werden müfsten.

Somit schien es, als hätten sich alle Experimentatoren, die einen besonderen Giftstoff in der menschlichen und tierischen Exhalationsluft nachgewiesen zu haben vermeinten, im Irrtum befunden.

Da erschien im Jahre 1903 eine Arbeit von Wolpert[13]), in der dieser in Gaswechselversuchen so hocherfahrene Schüler Rubners nachwies, dafs Minderung der Kohlensäureabscheidung zu beobachten ist, wenn Menschen ihre eigene Ausatemluft stundenlang wieder einatmen.

Mit dieser Feststellung aber mufste die schon zur Beruhigung gekommene alte Streitfrage unbedingt wieder in Flufs geraten, besonders auch, als dann Peters[14]) nachgewiesen zu haben glaubte, »dafs im Kondenswasser menschlicher Ausatemluft Stoffe sich finden, die wir nicht kennen und die geeignet sind, die Tätigkeit des isolierten Froschherzens zu schwächen.«

Heymann[15]), Paul[16]) und Erklentz[17]) haben demgegenüber mehr die physikalischen Bedingungen festzustellen gesucht, welche die Ursache sind für Nachteile, die, wie von allen Seiten

anerkannt wird, verbrauchte menschliche Ausatemluft veranlafst. Dann hat auch Flügge[18]) in einer formvollendeten Arbeit dargelegt, dafs Gesundheitsstörungen, wie sie sich in geschlossenen, mit Menschen gefüllten Räumen bemerkbar machen, auf Wärmestauung zurückzuführen sind.

Untersuchungen über die Wirkung klimatischer Faktoren auf den Menschen sind neuerdings von Reichenbach und Heymann veröffentlicht worden.[19])

Somit schien es, als entzöge sich die schon erörterte eigentümliche Tatsache, dafs Minderung der Kohlensäureabscheidung bei Ausatemluft einatmenden Menschen zu beobachten ist, einer genügend begründeten wissenschaftlichen Erklärung.

Inzwischen ist es gelungen, nachzuweisen, dafs das von mir im Ermüdungsmuskelprefssaft aufgefundene hochmolekulare Eiweifsabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter (Kenotoxin) auch in den Exkreten, sowohl den festen wie flüssigen, in Spuren auch in den gasförmigen — in der Ausatemluft — nachgewiesen werden kann.[20])

Da Kenotoxin, Versuchstieren injiziert, bei diesen die Atmung verlangsamt, in grofsen Dosen sogar zum Stillstand bringt, so lag es nahe, zwischen dem Kenotoxin in der Atemluft und jener Minderung der Kohlensäureabscheidung[13]) einen ursächlichen Zusammenhang zu vermuten.

In folgendem soll es versucht werden, diese Vermutung wissenschaftlich zu begründen durch Experimente, die mit weitgehendsten Kautelen durchgeführt wurden und sich stützen auf sichergestellte Methoden der modernen biologischen Forschung. Über die Eigenschaften, sowie den qualitativen und quantitativen Nachweis des Kenotoxins standen mir bereits mehrjährige, recht umfängliche Erfahrungen zur Verfügung.

Es war festgestellt, dafs diese biologisch gut zu definierende, hochmolekulare Substanz sich bei Temperaturen unter 40° aus Eiweifs jeglicher Provenienz abspaltet.[21]) Das durch fraktionierte Fällung von indifferentem Eiweifs befreite und dann im hohen Vakuum konzentrierte, ferner durch Dialyse von chemisch definierbaren Bestandteilen getrennte Reintoxin ist sehr labil. Nur

wenn es bald nach der Herstellung injiziert wird, tritt die charakteristische Wirkung unverkennbar ein.

Die mit reinem Kenotoxin reichlich injizierten Tiere werden allmählich soporös, ihre Körpertemperatur sinkt auf 30° und weniger herab, die Atmung wird verlangsamt, ja kann zum Stillstand kommen, während das Herz noch immer eine Zeitlang weiter schlägt.

Geringe Dosen des Toxins veranlassen dagegen nur leichten Sopor, der vorübergeht und vollkommener Erholung des Versuchstieres Platz macht. Durch Kymographionkurven kann festgestellt werden, dafs dann das Tier sogar leistungsfähiger ist wie ein normales.[21]) Solche aktiv immunisierten Tiere sind gegen die Wirkung grofser Dosen reinen Kenotoxins für längere Zeit vollkommen geschützt.

Zur weiteren scharfen Charakterisierung und zum Nachweis des chemisch nicht definierbaren Toxins dient sein spezifischer Antikörper, der die Eigenschaft hat, die biologische Wirksamkeit des Toxins vollkommen aufzuheben.

Betreffs Herstellung und der weiteren Eigenschaften dieser interessanten Substanz — des ersten künstlich, in vitro hergestellten Antikörpers — möchte ich auf meine früheren Publikationen verweisen.[21]) [22]) [23])

Mittels dieses Antikörpers, des Antikenotoxins, gelingt es relativ leicht, die äufserst geringen Mengen des Kenotoxins der Ausatemluft nachzuweisen, da der Unterschied zwischen mit Kenotoxin injizierten unvorbehandelten und mit dem spezifischen Antikörper vorher passiv immunisierten Versuchstieren sehr erheblich ist.

Hierdurch war ich gegenüber früheren Untersuchern in der Lage, das Kenotoxin der Ausatemluft, obschon es sich einer genauen chemischen Charakterisierung entzieht, doch sicher zu identifizieren. Namentlich konnte aber durch das Aufheben der Kenotoxinwirkung an den Versuchstieren mit Hilfe dieses spezifischen Antikörpers der Einwand widerlegt werden, der früheren Untersuchern gemacht worden ist, dafs nämlich alle toxischen Erscheinungen, welche sie an ihren Versuchstieren wahrgenommen

hatten, hervorgerufen seien durch geringe Mengen chemischer, ihren Injektionsflüssigkeiten anhaftender Substanzen, z. B. Ammonsalzen (s. Formánek).[6])

Auf Grund der genauen Kenntnis der Eigenschaften des Kenotoxins ist es übrigens leicht, zu beurteilen, warum die früheren Untersucher zu so ganz widersprechenden, teils positiven, teils negativen Resultaten hatten kommen müssen.

Zunächst ist das Kenotoxin in reinem Zustande, wie schon erwähnt, aufserordentlich labil, so dafs die jeweilige Behandlung des von den älteren Untersuchern vermuteten hypothetischen Stoffes im Atemkondenswasser oder in Flüssigkeiten, durch welche Atemluft geblasen worden war, nach unseren heutigen Anschauungen eine zu eingreifende war.

Als besonders unzweckmäfsig müssen vor allem die damaligen Versuche angesehen werden, welche auf Konzentrieren der oft grofsen Flüssigkeitsmengen durch Abdampfen auf dem Wasserbade abzielten; denn reines Kenotoxin wird schon bei Temperaturen von 50° geschädigt, ja etwas höher erwärmt, sogar vollkommen vernichtet.

Zwar zeigt es, durch äufserst geringe HCl-Mengen gebunden, eine bessere Haltbarkeit, doch auch auf mit HCl versetztes Kenotoxin wirkt Abdampfen auf freiem Wasserbade vernichtend und die Wirksamkeit aufhebend ein.

Zumeist war auch die Verwendung der überaus verdünnten, durch Einblasen von Ausatemluft in Wasser gewonnenen toxischen Lösungen eine viel zu sehr verzögerte. Meist wurden diese Lösungen tagsüber durch viele Stunden langes Einblasen von Atemluft in Wasser gewonnen und erst am nächsten Tage verarbeitet, resp. konzentriert.

Die Wirkungen derartiger, Tieren injizierter Flüssigkeiten konnten sich demnach auch kaum erheblich von denen der Injektion von Wasser unterscheiden.

Nur einer der früheren Untersucher, Merkel[4]), hat einen Weg, der hier einzig zum Ziele führen kann, nämlich Konzentrieren schwach angesäuerten Ausatemwassers im Vakuum, eine

Zeitlang eingeschlagen. Es ist bemerkenswert, dafs gerade er der Reihe derjenigen Forscher angehört, die hie und da, wennschon unsichere, doch immerhin nicht ganz negative Befunde bei ihren Versuchen gehabt haben. Doch steht zu vermuten, dafs seine Apparatur eine nach unseren heutigen Anforderungen nicht ganz vollkommene gewesen sein mag, so dafs die Verdampfung vielleicht doch etwas zu lange Zeit erfordert hat.

Hochgradig verdünnte Kenotoxinlösung zu konzentrieren ohne teilweisen Verlust des Kenotoxins, gelingt nur im hohen Vakuum mit vorzüglicher Kühlung. Es mufs die Füglichkeit geboten sein, ein Liter Flüssigkeit bei Temperaturen von nicht über 30° binnen einer Stunde bis auf wenige Kubikzentimeter einzuengen.

Offenbar haben aber auch einigen dieser Untersucher, besonders dem im allgemeinen ganz vorzüglich arbeitenden Merkel, die beim Konzentrieren des angesäuerten Ausatemwassers zu stark werdende saure Reaktion, sowie auch die durch Neutralisieren dieser konzentrierten Säure entstehenden starken Salzlösungen experimentelle Störungen verursacht.

Was die Säure anlangt, so ist schwaches Ansäuern des Wassers mit HCl vor Einleiten der Atemluft vollkommen genügend für ein gewisses Stabilisieren des Toxins im Vakuum. Trotzdem wird natürlich der Säuregehalt im Abdampfrest unter Umständen ein beträchtlicher. Durch Absättigen der Säure mit NaOH entsteht dann eine Flüssigkeit von relativ hohem Salzgehalt. Wem nun bekannt ist, dafs Kenotoxin zu den hochmolekularen Substanzen gehört, der wird durch Dialysieren leicht den gröfsten Teil des Salzgehaltes wegschaffen und eine isotonische Injektionsflüssigkeit herstellen können, welche nur die Wirkung des reinen Kenotoxins, nicht aber Salznebenwirkungen zeigt.

Hiermit fällt aber der, wie schon erwähnt, vielfach erhobene Einwand, die beobachteten toxischen Wirkungen müfsten auf Salze oder sonstige chemisch definierbare Bestandteile der Injektionsflüssigkeit zurückgeführt werden.

Übrigens wird dieser Einwand auch noch entkräftet durch die Tatsache, dafs mit dem Antikörper, welcher das passiv immu-

nisierte Tier vor der Giftwirkung des Abdampfrestes schützt, Salze und ähnliche Verunreinigungen nicht beeinflufst werden können.

Aber auch von den ein ganz besonders deletäres Gift vortäuschenden positiven Experimenten älterer Untersucher sind, falls man den Mafsstab der heutigen Kritik anlegt, nicht alle ganz einwandsfrei; so z. B. diejenigen, bei denen Krämpfe der Versuchstiere in Erscheinung traten.

Derartige schwere Störungen können aber nach unseren Erfahrungen nicht durch Kenotoxin hervorgerufen sein, sondern mit hoher Wahrscheinlichkeit durch zu grofsen Salzgehalt der Injektionsflüssigkeiten oder aber durch allzu grofse Mengen sehr dünner, wäfsriger, nicht isotonischer Injektionslösungen, wovon ja einige Experimentatoren berichten. Solche Erscheinungen waren also wohl die Folgen hämolytischer Vorgänge und anderer Zellschädigungen, nicht die Wirkungen eines bestimmten Atemgiftes.

Experimenteller Teil.

Zunächst handelte es sich, wie schon erwähnt, einzig und allein darum, zu untersuchen, ob auch die Lunge, wie die anderen Exkretionsorgane Kenotoxin abscheide.

Es gab zwei Wege des direkten Nachweises, entweder das Atemkondenswasser zu untersuchen, oder Wasser, durch welches Atemluft anhaltend geblasen worden.

Sie sind beide von mir, und zwar mit positivem Erfolg beschritten worden; jedoch stellte sich bald heraus, dafs letzterer bei weitem bessere Ausbeute gibt.

Man engt das mit einem Tropfen Salzsäure versetzte gröfsere Quantum Wasser, durch welches Ausatemluft stundenlang geblasen worden, im hohen Vakuum bei 30° bis auf 2 ccm ein, neutralisiert mit NaOH, dialysiert, zentrifugiert die isotonische Flüssigkeit und injiziert die eine Hälfte derselben einer unvorbehandelten, die zweite Hälfte einer gleich grofsen, mit dem spezifischen Antikörper des Kenotoxins vorher immunisierten Maus in die Subkutis.

Die unvorbehandelte Maus wird nun unter Herabgehen der Körpertemperatur und Verlangsamung der Atmung nach und nach soporös, während die vorher immunisierte Maus vollkommen munter bleibt; denn sie ist ja gegen grofse Kenotoxindosen, also auch gegen das aus der Ausatemluft stammende Kenotoxin geschützt.

Zwei in dieser Weise mit der gleichen Dosis Ausatemkenotoxinlösung injizierte Mäuse, eine unvorbehandelte und eine mit Antikenotoxin vorher passiv immunisierte, sind leicht schon äufserlich zu unterscheiden, wie aus den folgenden Figuren hervorgeht:



Fig. 1.

Die eine mit gesträubtem Fell und geschlossenen Augen ist soporös und zeigt die volle Kenotoxinwirkung, die andere, vor der Injektion mit dem spezifischen Antikörper passiv immunisierte ist trotz der gleichen injizierten Toxinmenge von dessen Wirkungen vollkommen frei geblieben. Beide Mäuse unterschieden sich zur Zeit der photographischen Aufnahme auch durch ihre Körpertemperatur erheblich. Die unvorbehandelte, durch Kenotoxinwirkung hochgradig soporöse hatte eine Aftertemperatur von 30°, die durch den Antikörper geschützte von 37°. Endlich liefs sich bei der soporösen Maus deutliche Atemverlangsamung konstatieren, bei der antitoxischen nicht.

Aus zahlreichen derartigen Versuchen ergab sich unzweifelhaft, dafs die menschliche Ausatemluft regelmäfsig wenigstens Spuren des Kenotoxins enthält.

Kenotoxin ist nur unter ganz besonderen Umständen ein giftiger Molekularkomplex — nur dann, wenn es in sehr hohen Dosen einverleibt wird. Hiernach zeigt die Kymographionkurve des injizierten Tieres eine sehr verminderte Leistung an. Das Gegenteil hiervon ist der Fall, wenn man mehrmals nacheinander kleine Dosen des Kenotoxins injiziert. Bei geschickter Ausnutzung der relativ kurzen Latenzzeit wird man dann schon mit der zweiten Dosis in die durch die erste Gabe geschaffene Immunität hineinkommen, was sich in einer Steigerung der Muskelleistung an der Kymographionkurve zu erkennen gibt.

Somit ist das Ausatmungskenotoxin keineswegs ein heftiges Gift. Niemals habe ich selbst, mit meiner Technik heftig wirkende alkaloidähnliche Stoffe im Atemkondenswasser nachweisen können.

Atemluftuntersuchungen an kleinen Tieren.

Die Versuchstiere wurden in das vollkommen luftdichte Gehäuse (Fig. 2 u. 3 *G*) gebracht, welches gerade nur so grofs war, dafs das Tier (Maus oder Meerschweinchen) bequem darin Platz hatte, ohne sich ausgiebig bewegen zu können. Vor dem Versuch wurden Urin und etwaiger Dickdarminhalt entfernt und das Fell mit angefeuchteter Watte abgerieben, sowie mit einem reinen Tuche getrocknet.

Der Deckel der für die Tiere bestimmten Glasgehäuse war gut eingeschliffen. Man mufs scharf darauf achten, Glasgehäuse zu wählen, die für die Gröfse der Tiere gut passen. Sind die Gehäuse zu grofs, dann ist der schädliche Raum in ihnen eine Fehlerquelle für genaue Bestimmungen, sind sie zu klein, dann werden die Tiere an der Atmung gehindert, und die Werte fallen zu gering aus. Immerhin sind selbst derartige grobe Versuchsbeeinträchtigungen nicht imstande, die Kohlensäurewerte so weit herabzudrücken, wie das aus Atemluft sachgemäfs hergestellte und dann injizierte Kenotoxin (s. Tabelle 2).

Die Anordnung war nun folgende: Von rückwärts (s. Fig. 2) trat in das Gehäuse *G* CO_2-freie Luft ein. Vorn, einige Zenti-

meter vor dem Kopfe des Tieres, von diesem durch ein feines Sieb getrennt, war die Austrittsstelle der durchgesaugten Luft.

Um möglichst zu verhindern, dafs ausgeatmete Kohlensäure von den Tieren wieder eingeatmet werde, war die Schnelligkeit der durchtretenden Luft so geregelt, dafs unbedingt mehr durch das Gehäuse getrieben wurde, als das Tier einatmen konnte. Das ungefähre Quantum war durch Vorversuche festgestellt worden.

Durch diese Versuchsanordnung wurde erreicht, dafs das Tier in völlig CO_2-freier Luft atmete.

Was die Entkohlensäurung der zugeführten Luft anlangte, so wurde die Luft 10 Minuten vor dem Versuch durch eine konzentrierte KOH-Lösung und einen trocknen Natronkalk in groben Stücken enthaltenden Turm geleitet.

Um die ausgeatmete Luft vor der Kohlensäurebestimmung vollkommen von Wasserdampf zu befreien, wurde sie durch eine konzentrierte Schwefelsäure enthaltende Waschflasche und dann durch ein mit vollkommen CaO-freiem Chlorkalzium gefülltes U förmiges Rohr geschickt.

Vor Benutzung des Chlorkalziumrohres war übrigens durch dieses einige Minuten lang ein CO_2-Strom geleitet worden, um das Chlorkalzium mit Kohlensäure zu sättigen. Dann liefs man das Rohr, nachdem das äufsere Ende mit Gummischlauch und Glasstab verschlossen worden war, noch ca. 12 Stunden in Verbindung mit dem CO_2 entwickelnden Apparate und verdrängte darauf das CO_2-Gas durch 20 Minuten langes Durchsaugen eines trockenen CO_2-freien Luftstromes. Auf diese Weise waren Verluste, die durch $CaCO_2$-Bildung hätten entstehen können, ausgeschlossen.

Der Kohlensäuregehalt der Ausatemluft wurde gewichtsanalytisch, und zwar mittels vorgeschalteter Liebigscher Kaliapparate (s. Fig. 2 u. 3 *K*) bestimmt, indem man eine beliebige Menge Atemluft durch den Apparat leitete und die Zeit des Durchleitens bis auf die Sekunde genau bestimmte.

Die Kohlensäurebestimmung in einem mittels Aspirators abgemessenen Luftquantum schien aus folgenden Gründen für

unsere Versuche als zu ungenau: Erstens wegen der wechselnden Ausdehnung der Luft auf ihrem Wege durch die ganze, mannigfache Hindernisse bildende Apparatur. Zweitens, weil bei Gebrauch eines einfachen Aspirators die Saugkraft ebenfalls eine wechselnde ist. Diese würde sich natürlich nur gleich bleiben können bei stets gleichem Wasserniveau und stets gleichem Luftvolumen über dem Wasser, Bedingungen, welche nur bei noch weiterer Kompliziertheit der Apparatur zu erreichen gewesen wären.

Ein besonderer Vorzug dieser unserer Methode bestand aber in dem Umstande, dafs das Resultat sofort ein absolutes und direktes war: Ein absolutes, weil ohne weiteres angegeben wurde, wieviel CO_2 das Tier innerhalb einer beliebig abgemessenen Zeit produziert, so dafs es leicht auf eine bestimmte Zeiteinheit umgerechnet werden konnte. Zählte man die Atemzüge, so liefs sich sogar leicht berechnen, wieviel CO_2 pro Atemzug produziert worden war. Das Resultat war aber auch ein direktes, weil die Wägung resp. die Gewichtsdifferenzen des zweimal gewogenen Liebigapparates selbst schon ohne weiteres das Resultat ergibt, durchaus unabhängig von dem Kohlensäuregehalt der Aufsenluft, von Temperatur und Barometerdruck.

Ein weiterer besonderer Vorteil der Methode war noch der, dafs ein vollständiger, einwandsfreier Versuch in der kurzen Zeit von 10 bis 15 Minuten durchgeführt werden konnte.

Das Wiegen der Kaliapparate, die dann, wie üblich, mit Gummirohr und Glasstäbchen verschlossen gehalten wurden geschah übrigens stets erst eine Stunde nach dem Versuch.

Was diese Kaliapparate anbetrifft, so absorbierten sie in ihrer neuesten Konstruktion von Bender und Hobein, wie zahlreiche Versuche ergaben, bei unseren kleinen Tieren (Gewicht derselben nicht über 300 g) sämtliche Kohlensäure.

Der gröfseren Sicherheit halber, und um nicht durch mitgerissene Tröpfchen von KOH-Lösung Verluste zu haben, liefsen wir noch eine Kugel anschmelzen und verbanden erst mit dieser das kleine mit trockenem KOH und $CaCl_2$ gefüllte Röhrchen.

das bestimmt ist, etwa fortgehenden Wasserdampf und den letzten Rest von vielleicht noch unabsorbierter Kohlensäure zurückzuhalten.

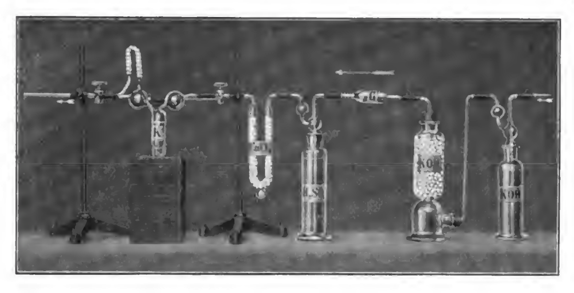


Fig 2

Die Einschaltung des Kaliapparates geschah mit einem einzigen Handgriff; gleichzeitige Drehung der beiden Hähne (s. Fig. 3), also auf die Sekunde genau.

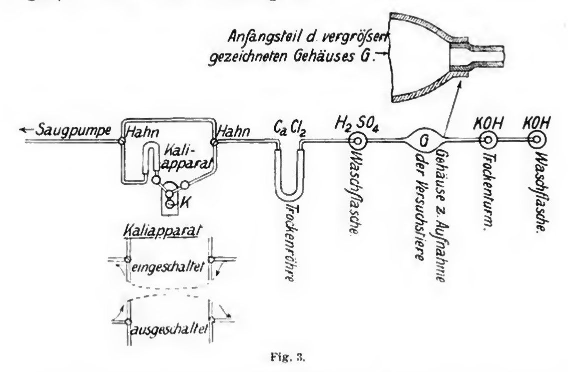


Fig. 3.

Da nach Durchleiten von Luft durch den Apparat in Versuchen, bei denen ein Tier nicht im Gehäuse war, sich kein

Gewichtszuwachs des Kaliapparates feststellen liefs, so konnte angenommen werden, dafs unsere Apparatur genau arbeitete. Es verdienen deshalb vielleicht auch die relativ hohen Mittelwerte unserer Bestimmungen eine gewisse Beachtung. Diese hohen Werte finden ihre Erklärung wohl in dem Umstande, dafs die Mäuse unserer Zucht aufsergewöhnlich lebhaft waren und in dem Gehäuse fortwährend die energischsten Befreiungsversuche vornahmen.

Anderseits ist es auch wahrscheinlich, dafs folgender Umstand nicht ganz ohne Einflufs auf die Höhe der Werte geblieben ist: Unsere Tiere atmeten durch die Vorlegeflasche gewaschene, absolut kohlensäure- und kenotoxin-freie Zimmerluft ein. Demgegenüber gelingt vielleicht bei Apparaten mit zirkulierendem Luftstrom die Reinigung der zu atmenden Luft von allen störenden und die Kohlensäureausscheidung herabmindernden Beimengungen nicht immer in ganz so vollkommenem Mafse.

Tabelle 1.

Gewicht des Tieres (Versuchsmaus) in g	pro Stunde ausgeschiedene CO_2			
	pro Einzeltier		pro kg Tier	
	in g	in l	in g	in l
I. 19,0	0,164	0,083	8,632	4,366
18,6	0,162	0,082	8,710	4,406
18,2	0,156	0,079	8,571	4,336
18,2	0,155	0,078	8,516	4,308
17,6	0,163	0,083	9,261	4,684
17,3	0,158	0,080	9,133	4,619
16,8	0,162	0,082	9,643	4,877
16,6	0,156	0,079	9,398	4,753
16,6	0,153	0,077	9,217	4,662
16,6	0,152	0,077	9,156	4,632
16,5	0,151	0.076	9,151	4,629
16,5	0,155	0,078	9,394	4,752
Mittel 17,375	0,157	0,0795	9,065	4,585

1) Bei den Kohlensäurebestimmungen hat mich der leider inzwischen plötzlich dahingeschiedene Herr cand. chem. Zehetmeyer in aufserordentlich gewissenhafter und sachgemäfser Weise unterstützt.

Tabelle 1.

Gewicht des Tieres (Versuchsmaus) in g		pro Stunde ausgeschiedene CO_2			
		pro Einzeltier		pro kg Tier	
		in g	in l	in g	in l
II.	15,8	0,151	0,076	9,557	4,834
	15,8	0,142	0,072	8,987	4,546
	14,8	0,143	0,072	9,662	4,887
	14,7	0,136	0,069	9,252	4,680
	14,6	0,142	0,072	9,726	4,920
	14,6	0,147	0,074	10,068	5,093
	14,4	0,138	0,070	9,583	4,847
	14,2	0,139	0,070	9,789	4,951
	14,2	0,145	0,073	10,211	5,165
	14,1	0,141	0,071	10,000	5,058
	14,0	0,144	0,073	10,286	5,202
	14,0	0,140	0,071	10,000	5.058
Mittel	14,6	0,142	0,072	9,760	4,933
III.	13,8	0,135	0,068	9,783	4,948
	13,7	0,128	0,065	9,343	4,726
	13,4	0,137	0,069	10,224	5,174
	13,4	0.138	0,070	10,298	5,205
	13.2	0,141	0,071	10,682	5,403
	12,9	0,125	0,063	9,690	4,901
	12,8	0,130	0,066	10,156	5,137
	12,7	0,134	0,068	10,551	5,337
	12,6	0,127	0,064	10,079	5,098
	12,5	0,133	0,067	10,640	5,382
	12,1	0,129	0,065	10,661	5,393
	12,1	0,123	0,062	10,165	5,142
Mittel	12,93	0,132	0,0665	10,189	5,154

Was nun die Bestimmung des Kenotoxins anbetrifft, so wurde eine Anzahl von Mäusen, unter Umständen an Stelle dieser auch ein Meerschweinchen in eine gröſsere Glaskapsel unseres Apparates gesetzt (Fig. 4 *G*), nachdem den Tieren vorher das Fell gesäubert und Urin und Kot entleert worden war. Alle Stunden wurden die Tiere aus dem Gefäſs genommen, dieses ausgewaschen und gereinigt und neue Versuchstiere an Stelle der ersten hineingebracht.

Das durchgesogene Luftquantum wurde mittels einer Gasuhr gemessen.

Mittels der Wasserstrahlluftpumpe wurde dann die Luft langsam viele Stunden lang durch das Gehäuse gezogen; sie passierte den kurzen aufsteigenden Schenkel eines Winkelrohres, dessen absteigender Schenkel an einen Kugelapparat (Fig. 4 *K*) angeschlossen war. Dieser Kugelapparat stand noch mit einer Waschflasche (Fig. 4 *W*) in Verbindung. Kugelapparat und Waschflasche waren mit schwach durch HCl angesäuertem Wasser gefüllt.

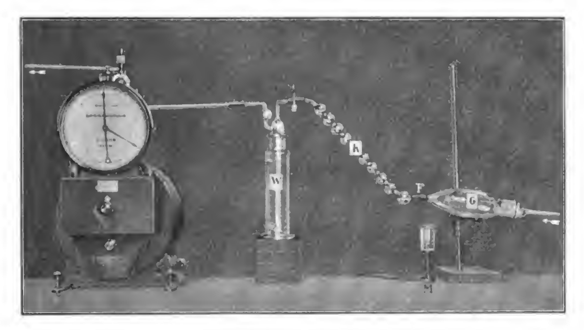


Fig. 4. [1])

Der Kugelapparat, bestehend aus zehn aneinander geschmolzenen, walnufsgrofsen Glaskugeln, war so konstruiert, dafs enge Glasrohre die Verbindung zwischen den einzelnen Kugeln vermittelten. Die sehr kleinen Luftblasen wurden daher gezwungen, an der oberen Wand der Kugeln des schräg aufgestellten Apparates hinzugleiten und zogen sich bei jedem Übertritt in die nächste Kugel weit in die Länge. Es geschah deshalb das Auswaschen der durchgesogenen Luft in der denkbar vollkommensten Weise.

Damit der Wasserdampf der Exspirationsluft sich nicht auf dem kurzen Wege bis zur Waschflasche kondensiere, wurde ein

1) Der Winkel des Rohres *F* ist wegen der Kleinheit obiger Zeichnung nicht deutlich erkennbar.

Mikrobrenner (Fig. 4 *M*) so unter das Schenkelrohr gesetzt, dafs dieses mäfsig erwärmt blieb. Hinter dem Gefäfse *G* war ein Luftfilter angebracht.

Was das angesäuerte Wasser im Kugelapparate und der angeschlossenen Waschflasche anlangt, so genügte uns dazu das destillierte Wasser des Handels nicht, da es bekanntlich stets mikroorganismenhaltig ist. Wir versetzten es deshalb mit übermangansaurem Kali und destillierten nochmals aus einem Kolben von Jenenser Glas.

Das Wasser des Kugelapparates und der Waschflasche wurde nach beendeter Durchleitung der Atemluft von mindestens zehn Stunden langer Dauer in folgender Weise verarbeitet:

Es wurde in einen Vakuumkolben gebracht, der an einen sehr langen Kühler angeschlossen war. Beim Einengen der sehr schwach sauren Flüssigkeit wurde peinlich darauf geachtet, dafs ihre Temperatur 30° nicht überschritt. Trotzdem kochte sie so lebhaft, dafs sie zumeist schon im Verlauf einer halben Stunde von 300 bis auf wenige Kubikzentimeter konzentriert war. Dieser Rest wurde mit wenigen Tropfen Natronlauge genau neutralisiert (Lackmus), sodann in einer rasch laufenden Zentrifuge bis zur Klarheit zentrifugiert und auf einen kleinen mit tierischer Membran überspannten Dialysator gebracht, der vorher über Fliefspapier auf seine Dichtigkeit sorgfältig geprüft worden war. Schon nach wenigen Stunden war der Salzgehalt der Restflüssigkeit bis zur Isotonie gering geworden. Dann wurde nochmals filtriert und das Filtrat sofort injiziert.

Aus einer gröfseren Anzahl von Injektionsversuchen sei folgender als typisch genauer beschrieben:

Drei mittelgrofsen, 16,5—17 g schweren männlichen Mäusen, einer unvorbehandelten, einer durch Injektion von wenig reinem Kenotoxin aktiv und einer per os durch Antikenotoxin passiv immunisierten wurde je $^{1}/_{3}$ des dialysierten isotonischen Vakuumrestes subkutan injiziert.

15 Stunden nach der Injektion war die unvorbehandelte Maus schwer soporös und ihre Atmung sehr verlangsamt (103 in der Minute). Die Körpertemperatur war bis 30° gefallen, ihre

Kohlensäureausscheidung, in unserem Apparate (Fig. 2) bestimmt, ergab einen Wert von 1,954 l pro kg und Stunde. Der von uns gefundene Mittelwert für Normalmäuse unserer Zucht von dieser Gröfse beträgt 4,585 l pro kg und Stunde.

Ganz anders als die unvorbehandelte verhielt sich nach gleicher Latenzzeit die vorher aktiv und die passiv immunisierte Maus, obschon ihnen dieselbe Dosis des aus dem gleichen Atemwasser hergestellten Kenotoxins injiziert worden war. Beide blieben durchaus munter, Atmung und Temperatur normal, Kohlensäureausscheidung 4,951 bzw. 5,058 l pro kg und Stunde, also etwas höher als der Mittelwert normaler Mäuse der gleichen Gröfse, der, wie schon erwähnt, nach unseren Bestimmungen 4,585 l pro kg und Stunde betrug.

Die unvorbehandelte Maus hatte also erheblich geringere Kohlensäuremengen in der Zeiteinheit ausgeatmet, wie die beiden immunisierten Mäuse, so geringe, dafs das höchstens mit den verminderten Kohlensäureausscheidungen von Winterschläfern in der Schlafperiode verglichen werden kann.

In hohem Grade interessant ist es, dafs solche unter starker, zumeist stundenlang anhaltender Kenotoxinwirkung stehende Mäuse trotz der augenscheinlichen Schwere des soporösen Zustandes, so dafs sogar Körpertemperaturen dieser Warmblüter von 26° bis 25° sowie äufserste Atemverlangsamung beobachtet werden, sich doch relativ schnell und dann ganz vollständig erholen können. Für den mit Bakteriengiften zu arbeiten Gewöhnten ist diese Erholung derartig schwer affizierter Versuchstiere eine ganz neue, durchaus ungewohnte Erscheinung.

Von den »weiteren quantitativen Resultaten« auf Tabelle 2 illustrieren die sechs letzten Zahlenreihen, von denen sich je zwei, entsprechend den Klammern, auf je ein Versuchstier beziehen, sehr anschaulich die eigentümliche ganz überraschende Erholung derartiger, anfangs sehr schwer affizierter, unter Kenotoxinwirkung stehender Versuchsmäuse auch zahlengemäfs.

Tabelle 2.

Gewicht des Tieres in g	Latenzzeiten in Stunden	Pro kg und Stunde ausgeschiedene CO_2 (in l)	
		unvorbehandelte Tiere	mit dem für Kenotoxin spezif. Antikörper vor dem Versuch passiv immunisierte Tiere
17—17,5	24	0,803	4,306
16—16,5	24	0,785	4,612
14—14,5	24	0,686	5,013
14—14,5	24	0,650	4,932
13,5—14	24	0,701	5,109
12—12,5	24	0,825	4,916
{ 17—17,5	15	1,029 }	4,625
{ 17—17,5	48	4,762 }	4,610
{ 12,5—13	15	1,572 }	5,364
{ 12,5—13	48	5,655 }	5,291
{ 13—13,5	15	2,367 }	4,958
{ 13—13,5	48	5,209 }	5,106

Wenn an Stelle einer gröfseren Anzahl Mäuse ein Meerschweinchen in das Gehäuse des Apparates (Fig. 4 *G*) gebracht und dessen Ausatemluft in gleicher Weise behandelt wurde, so waren die Ergebnisse ähnlich, es liefs sich auch aus der Ausatemluft der Meerschweinchen reichlich Kenotoxin gewinnen und mittels Mäuseinjektionsversuches nachweisen.

Da aus allen früheren Untersuchungen mit Sicherheit hervorgeht, dafs das Kenotoxin eine hochmolekulare organische Substanz sein mufs, so wurde auch noch untersucht, ob nicht etwaige quantitative Beziehungen bestünden zwischen dem Gesamtgehalt der Ausatemluft kleiner Versuchstiere an organischer Substanz und dem Kenotoxingehalt.

Es wurden in mehreren Versuchen durch den oben beschriebenen, für die Toxinbestimmung geeigneten Apparat (Fig. 4), in dessen Gehäuse sich ein Meerschweinchen befand, innerhalb einer Zeit von 24 Stunden einige Hundert Liter Luft gesaugt, dann das Tier durch einen Schlag auf den Nacken getötet, die Tierleiche in das Gehäuse zurückgebracht und wiederum 24 Stunden lang eine gleiche Menge Luft durchgesogen.

Sowohl nach dem Versuch mit dem lebenden, als auch nach dem Versuch mit den toten Meerschweinchen wurde in dem vorgeschlagenen, von uns selbst vor dem Versuch über Kaliumpermanganat nochmals destillierten Wasser die organische Substanz bestimmt. Die Resultate der zweiten mit dem toten Tiere vorgenommenen Bestimmung wurden stets von dem Werte der ersten vom atmenden Tiere erzielten abgezogen.

Die Mittelwerte, welche hierbei resultierten, stimmten zwar, miteinander verglichen, gut überein, jedoch zeigten sich die Flüssigkeiten, in welchen wegen sehr langen Durchleitens von Ausatemluft reichlich organische Substanz sich angehäuft hatte, als keineswegs entsprechend kenotoxinhaltig. Wenn man freilich bedenkt, wie labil das Kenotoxin ist, so dafs es z. B. in verdünnten Lösungen schon innerhalb 24 Stunden an Wirksamkeit ganz erheblich einbüfst, so liegt es auf der Hand, dafs ein Parallelismus zwischen dem Gesamtgehalt an organischer Substanz und dem Kenotoxingehalt der Atemluft nur aufserordentlich schwierig, vielleicht überhaupt nicht feststellbar ist. Das Kenotoxin kann vielmehr nur durch seine biologische Wirkung und durch die Beeinflussung mittels des spezifischen Antikörpers identifiziert und einigermafsen dadurch quantitativ bestimmt werden. Es bildet zweifellos nur einen äufserst winzigen Bruchteil der durch die Respiration und Perspiration produzierten organischen Exkrete des lebenden Tieres. Immerhin ist sein Einflufs, obschon es ja den heftig wirkenden Giften keineswegs zugehört, doch unter Umständen ein ganz erheblicher auf den lebenden Organismus, und es vermag bisweilen sicherlich auch die wichtigsten Lebensfunktionen zu stören.

Nun haben ja unsere bedeutendsten Hygieniker, namentlich diejenigen, welche durch Stoffwechselversuche die Bedingungen festlegten, die für das Wohlbefinden und für die Gesundheit unerläfslich sind, auf diese Beeinträchtigung des Stoffwechsels beim Einatmen verbrauchter Luft energisch hingewiesen; so z. B. Rubner in seinem bemerkenswerten Vortrag, den er am 24. November 1906 zugunsten des Pettenkoferhauses in München gehalten hat, wo er in bezug auf die Schädlichkeit verbrauchter

Luft sich in folgender Weise äufsert: »Es ist auffällig, dafs bei schlechter Luft eine Wirkung auf die Verringerung des Stoffwechsels vorhanden ist, auch wenn wir gegen die Empfindung der schlechten Luft schon abgestumpft sind und diese letztere als solche gar nicht mehr wahrnehmen. Die schlechte Luft mufs also trotzdem eine Rückwirkung auf den Menschen haben, sie wirkt wie eine Ermüdung und Erschlaffung.«

Es ist auch leicht einzusehen, dafs alle Einwirkungen physikalischer und chemischer Natur, die eine flache Atmung bedingen, übler Kenotoxinwirkung besonders Vorschub leisten, da ja die Residualluft einen immerhin nicht geringen Kenotoxingehalt haben mufs.

Bei ungenügender Lungenventilation entsteht somit die Gefahr chronischer Kenotoxinwirkung, die sich zunächst in grofser Schlaffheit, Abgeschlagenheit und Empfindlichkeit kundgibt.

Diesem circulus vitiosus, der sich bekanntlich bei sitzender Lebensweise in schlecht ventilierten Räumen nur zu leicht einfindet, mufs aber energisch entgegengearbeitet werden und zwar mittels ausgiebiger, mit allen Hilfsmitteln der modernen Technik durchzuführender Ventilation besonders in Schulen, auf Schiffen, in Versammlungsräumen usf., wie ja bekanntlich auch behördlich in Form mannigfacher Erlasse angeordnet wird.

Mitteilungen über die Wirkung der in allerjüngster Zeit in Anwendung kommenden, die Ventilation unterstützenden künstlichen Ozonisierungsverfahren verbrauchter Luft auf das nunmehr qualitativ und quantitativ zu bestimmende Kenotoxin der Ausatemluft behalte ich mir für eine spätere Veröffentlichung vor.

Inzwischen ist es dem Autor gelungen[27]), den Nachweis zu liefern, dafs das Kenotoxin in den Exkreten der Warmblüter stets begleitet wird von einer präzipitablen Substanz, die mit einem in den Antikenotoxinpräparaten vorkommenden Kenopräzipitin bei leicht alkalischer Reaktion einen spezifischen Präzipitinniederschlag gibt. Auch in dem konzentrierten Atemluftwasser war mit diesem spezifischen Kenopräzipitin leicht eine derartige Fällungsreaktion zu erzielen, womit der Tatsache,. dafs Kenotoxin in der Atemluft vorkommt, eine neue Stütze erwächst.

Literatur.

1. Pettenkofer, Über den Luftwechsel in Wohngebäuden. München 1858, bei Cotta.
2. Seegen und Nowack, Pflügers Archiv f. Physiologie, 1879, 19, S. 34.
3. Brown Secquard und d'Arsonval, Compt. rend. de l'Acad. de sc. 1888, S. 106, 165 u. 273.
   Dieselben, Compt. rend. de la soc. de Biol. 1888, S. 90, 99, 108 u. 110.
4. Merkel S., Archiv f. Hygiene, 1892, S. 15.
5. Hermanns H., Archiv f. Hygiene, 1883, Bd. 1.
6. Formánek, Über die Giftigkeit der Ausatmungsluft. Archiv f. Hygiene, 1900, Bd. 38, S. 1.
7. Dastre und Loye, Compt. rend. de la soc. de biol., 1888.
8. Hoffmann v. Wellenhof, Wien. klin. Wochenschr., 1888.
9. Geyer, Jahresbericht über Tierchemie, 1889.
10. Russo, Giliberti, Alessi, Bolletino della Società d'Igiene di Palermo, 1888.
11. Lehmann und Jessen, Archiv f. Hygiene, 1890.
12. Würtz, Compt. rend. de l'Acad. de sc., 1888, S. 213.
13. Wolpert, Archiv f. Hygiene, 1903, Bd. 47, S. 1.
14. Peters, ebenda, Bd. 57, S. 145.
15. Heymann B., Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 49, 1905. S. 388.
16. Paul L., ebenda, S. 405.
17. Erklentz W., ebenda, S. 433.
18. Flügge C., ebenda, S. 363.
19. Reichenbach und Heymann, Zeitschrift f. Hygiene, 1907, Bd. 57, Heft 1, S. 1.
20. Weichardt W., Weitere Studien mit dem Eiweifsabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter-Kenotoxin etc. Münch. med. Wochenschr., 1907, Nr. 39.
21. Derselbe, Serologische Studien auf dem Gebiete der experimentellen Therapie. Stuttgart, Ferd. Enke 1906.

22. Weichardt W., Eiweifsabspaltungsantigen von Ermüdungstoxincharakter. Zentralbl. f. d. gesamte Physiologie u. Pathologie des Stoffwechsels, Neue Folge, 1907, Nr. 17.
23. Derselbe, Zentralblatt f. Bakteriologie etc. Org. Abt. 1, Bd. 53, S. 312.
24. Heim L., Lehrbuch der Hygiene. Stuttgart, Ferd. Enke, 1903.
25. Derselbe, Lehrbuch der Bakteriologie. Stuttgart, Ferd. Enke, 1906.
26. Rubner M., Lehrbuch der Hygiene. Leipzig, Deuticke, 1907.
27. Ärztl. Bezirksv. z. Erlangen, Sitzung v. 21. Nov. 1907; s. Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 3, S. 141.
28. Weichardt W., Jahresbericht über die Ergebnisse der Immunitätsforschung. Stuttgart, Ferd. Enke, 1906 und 1907.

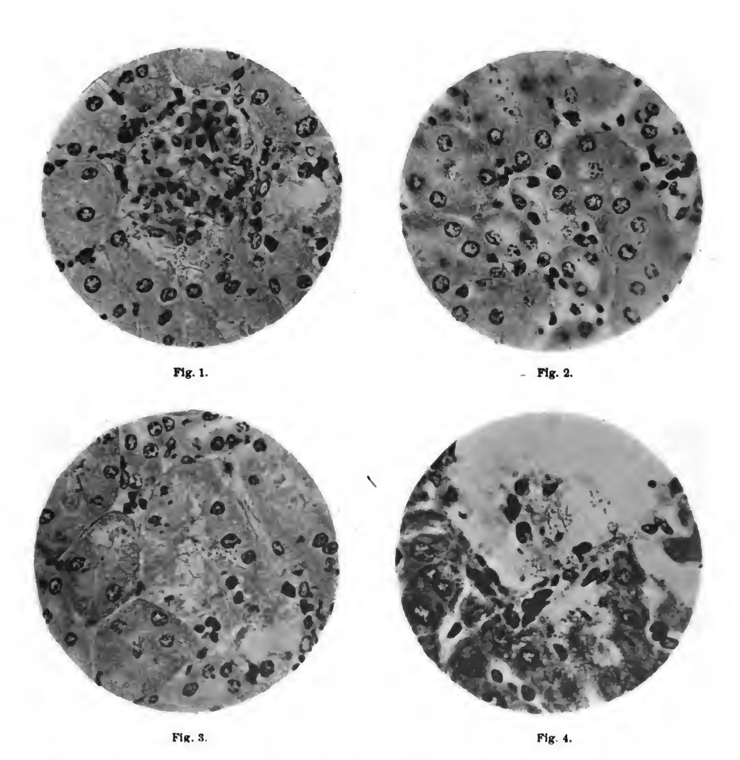


Fig. 1. Fig. 2.

Fig. 3. Fig. 4.

Erklärung der Abbildungen zu: Methoden zur Darstellung von Spirochäten und Trypanosomen in Organschnitten. Von Dr. **Max Gottberg.**

Photographieen aufgenommen mit Leitz, Apochromat homog. Immersion 2 mm, 1,30 Apert., dazu Kompensationsokular 8.

Fig. 1. Tickfieber, Niere Färbung mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain). Spirochäten im Glomeruluskapselraum.
Fig. 2. Tickfieber, Niere Färbung mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain). Einzelne Spirochäte im Harnkanälchen.
Fig. 3. Amerikanische Recurreus, Niere Färbung mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain). Spirochäte im Harnkanälchen.
Fig. 4. Tickfieber, Leber Färbung mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain). Zahlreiche Spirochäten in einem Blutgefäß.

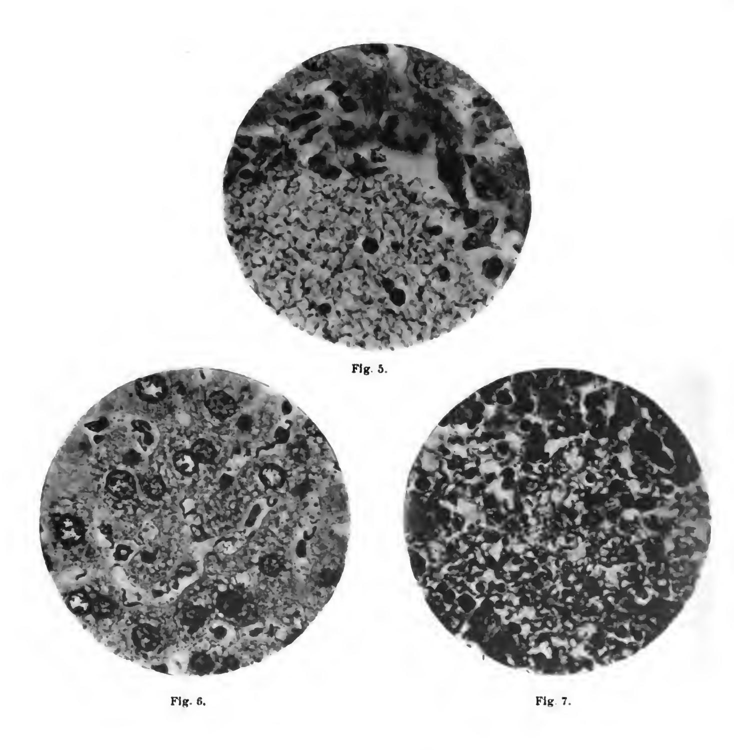


Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 5. Nagana, Maus. Leber Fixierung nach Zenker, Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Hausen. Zahlreiche Trypanosomen im Segment eines Lebergefäßes.

Fig. 6. Nagana, Maus, Leber Fixierung n. Carnoy, Färbung mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain). Nachfärbung mit Gieson. Trypanosomen in den Kapillaren.

Fig. 7. Nagana, Maus, Milz Fixierung nach Zenker, Färbung mit Eisenhämatoxylin (Heidenhain). Nachfärbung mit Orange. Zahlreiche Trypanosomen in der Milzpulpa.

Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin

Experimentelle Beiträge zur Antikörperbildung bei immunisierten Tieren.

Von

Y. Fukuhara,
Professor in Osaka.

Es liegt bereits eine grofse Zahl von Arbeiten in der Literatur vor, die sich experimentell mit den künstlichen Einflüssen auf die natürlichen Schutzstoffe des Organismus beschäftigen. Die Einflüsse auf die Antikörperproduktion im immunisierten Organismus dagegen sind nicht oft studiert worden.

Jörgensen und Madsen[1]) unterscheiden für den temporären Verlauf des Agglutiningehaltes des Serums bei aktiver Immunisierung mit Typhusbazillen oder Choleravibrionen, Levin[2]) analog für Kolibazillen, 4 Phasen an der Kurve, die nach dem jeweiligen Gehalte an Agglutinin konstruiert worden ist:

1. Phase 3—6 Tage nach der Injektion, in welcher sich kein Agglutinin oder eine Verminderung etwaigen normalen befindet;
2. Phase 3—6 Tage mit raschem Anstieg des Agglutiningehaltes, so dafs das Maximum gegen den 7.—13. Tag post infectionem zur Erscheinung kommt.
3. Eine Phase des Abfalls, zuerst rapid, dann aber
4. ein Zustand gleichmäfsiger Höhe oder langsamen Abfalls.

Th. Müller hat den Mechanismus der Antikörperproduktion in 3 Vorgängen unterscheidet:

Erste Phase. Resorption der bakteriellen Substanzen.
Zweite Phase. Antikörperproduktion der lymphoiden Organe.
Dritte Phase. Ausschwemmung der neugebildeten Schutzstoffe und ihr Übertritt in die Zirkulation.

Es kommen aber bei Abfallsphase sehr wechselnde Verhältnisse vor. Die Beziehung zwischen dem plötzlichen Anstieg oder Abfall bei dieser Phase und der äufseren Einflüsse zu studieren, ist wohl von Interesse.

Gewöhnlich verschwinden die Antikörper nach kurzer Zeit, wenn die Einfuhr bakterieller Substanzen aufgehört hat. Aber es ist denkbar, dafs ein Organismus, der einmal unter dem Einflufs eines Infektionsstoffes gestanden und auf diesen spezifisch reagiert hat, die Funktion dieser spezifischen Stoffbildung wieder aufnimmt oder steigert, wenn ein günstiger chemischer oder physiologischer Reiz auf ihn wirkt.

Nach der Seitenkettentheorie beruht das Auftreten der spezifischen Stoffe im Serum auf der Bindungsavidität zwischen den Rezeptoren des lebenden Organismus und den haptophoren Gruppen des Infektionsmaterials. Es wäre nun möglich, dafs nach einmaliger Einwirkung des Infektionsmaterials diese Avidität der Rezeptoren sich gesteigert hat und diese demgemäfs sehr viel leichter reagieren.

Es ist fraglich, ob irgend andere Zellarten oder deren Derivate auch diese Rezeptoren neu reagieren lassen können.

Diese Fragen mufs man nach verschiedenen Seiten hin untersuchen, da sie wohl von Interesse für die Immunitätslehre sind.

Die grofse Bedeutung, die diese Untersuchung in praktischer wie theoretischer Beziehung hat, gab uns die Anregung zu dieser Arbeit.

Wir möchten einige gewonnene Resultate angeben.

Wir gehen nunmehr zur Darstellung unserer Versuche über. Dieselben beziehen sich auf einige Einflüsse auf die Immunstoffproduktion bei den schon immunisierten Tieren.

Als Versuchstiere verwendeten wir die mit Typhusbazillen immunisierten Kaninchen.

Das Impfmaterial zur Immunisierung wurde so bereitet, dafs eintägige Typhusagarkulturen im sterilen Kölbchen mit steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt und dann eine Stunde lang auf 60° C erhitzt wurde.

Da die quantitative Frage der Bazillenmenge von Interesse ist, habe ich die dem Körpergewicht der Tiere entsprechend berechnete Menge injiziert. Es wurden nämlich 2 Ösen Agarkulturen pro 1000 g Körpergewicht einmal eingespritzt. Alle Tiere erhielten die Einspritzung an demselben Tage. Diese Typhusbazillen waren auf Nährboden gleicher Bereitung unter gleichen äufseren Umständen gleichlang gewachsen.

Von den Applikationswegen wählte ich nur intravenöse Injektion.

Nach 5, 10, 20 und 30 Tagen wurde das Blut entnommen und das Agglutinationsvermögen und die bakterizide Fähigkeit untersucht.

Die Bestimmung des Agglutinationstiters geschah in der bekannten, meist angewandten Weise, dafs abfallende Serummengen mit physiologischer Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen von 1 ccm aufgefüllt, mit je 1 Öse einer Agarkultur emulsioniert wurden. Die Wertung wurde nach zweistündigem Aufenthalt der Röhrchen bei 37° C mikroskopisch vorgenommen und nur diejenigen Proben noch als positiv bezeichnet, in denen deutliche Klümpchenbildung eingetreten war.

Die Prüfung des bakteriziden Titers erfolgte nach dem Vorgange von Neifser und Wechsberg[3]) mit Hilfe des Plattenverfahrens. In der Technik folgte ich den Angaben von Stern und Korte[4]). Das Serum wurde durch halbstündiges Erwärmen auf 56° C inaktiviert und dann zu je 1 ccm in abfallenden Verdünnungen in sterile Reagensgläser gegeben.

Hierzu wurden 0,5 ccm einer 24stündigen Typhusbouillonkultur in einer Verdünnung von 1 : 5000 — 10000 zugesetzt. Zum Reaktivieren wurden 0,5 ccm frisches, normales Kaninchenserum in einer Verdünnung von 1 : 10 physiologischer Kochsalz-

lösung zugefügt und gut geschüttelt. Die Röhrchen kamen alsdann auf 3 Stunden in den Brutschrank. Der gesamte Inhalt jedes Röhrchens wurde dann zu Agarplatte verarbeitet. Nach 18—24 Stunden wurden die Platten besichtigt, wobei als Grenzwert der Wirksamkeit diejenige Platte betrachtet wurde, auf welcher noch eine starke Verminderung der Kolonien gegenüber der unzählige Kolonien aufweisenden Kontrollplatte beobachtet wurde.

Untersuchungsergebnisse der Sera von Immuntieren sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht	Agglutinationstiter				Titer im bakteriziden Reagensglasversuch			
		5. Tag	10. Tag	20. Tag	30. Tag	5. Tag	10. Tag	20. Tag	30. Tag
1	2500	1:1000	1:3500	1:1400	1:800	$^1/_{3000}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{550}$	$^1/_{300}$
2	3000	1:700	1:3500	1:2500	1:800	$^1/_{2500}$	$^1/_{900}$	$^1/_{400}$	$^1/_{300}$
3	2800	1:1200	1:4000	1:2500	1:700	$^1/_{3500}$	$^1/_{1500}$	$^1/_{600}$	$^1/_{400}$
4	1800	1:500	1:4000	1:1500		$^1/_{3000}$	$^1/_{1500}$	$^1/_{1000}$	
5	2200	1:600	1:3000	1:1200		$^1/_{2000}$	$^1/_{1500}$	$^1/_{700}$	
6	3000	1:500	1:2500	1:1000		$^1/_{2500}$	$^1/_{1100}$	$^1/_{500}$	
7	1900	1:1000	1:3500	1:2000	1:700	$^1/_{1800}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{1100}$	$^1/_{600}$
8	2200	1:500	1:2000	1:3000	1:1000	$^1/_{2000}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{800}$	$^1/_{600}$
9	1800	1:2000	1:3200	1:1800	1:800	$^1/_{2500}$	$^1/_{700}$	$^1/_{380}$	$^1/_{250}$
10	1800	1:1600	1:3000	1:1500	1:600	$^1/_{2000}$	$^1/_{450}$	$^1/_{250}$	$^1/_{100}$
11	2700	1:1500	1:2800	1:1100	1:500	$^1/_{2500}$	$^1/_{800}$	$^1/_{300}$	$^1/_{180}$
12	2500	1:2000	1:2500	1:1000	1:400	$^1/_{2500}$	$^1/_{700}$	$^1/_{400}$	$^1/_{300}$
13	3100	1:1500	1:2500	1:1300	1:350	$^1/_{3600}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{800}$	$^1/_{450}$
14	2500	1:2000	1:3000	1:1000		$^1/_{2000}$	$^1/_{1500}$	$^1/_{600}$	
15	2800	1:800	1:1500	1:2200		$^1/_{3200}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{500}$	
16	3200	1:1500	1:2500	1:1200		$^1/_{2800}$	$^1/_{2000}$	$^1/_{750}$	
17	2000	1:1800	1:3000	1:1800		$^1/_{3800}$	$^1/_{1100}$	$^1/_{400}$	
18	2200	1:1100	1:3500	1:2000		$^1/_{3000}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{800}$	

Werfen wir nun einen Blick auf die erhaltenen Resultate der bakteriziden Reagensglasversuche, so sehen wir, dafs die temporären Schwankungen aller Sera eine gemeinsame Eigentümlichkeit aufweisen, nämlich eine rapide Erhebung der Titerkurve der Sera am 5. (selten am 10.) Tage nach der Bazilleneinspritzung. Am 10. Tage (selten noch später) zeigt es schon ein mehr oder

weniger schnelles Fallen und geht im Verlauf vom 20.—30. Tage langsam herunter.

Von den Agglutinationskurven erhalten wir ein etwas anderes Bild wie von den Bakterizidiekurven, nämlich eine ziemlich schnelle Erhebung der Titerkurve des Serums bis zum 10. (selten 20.) Tage und dann noch langsamer Abfall nach der Bazilleneinverleibung.

Pfeiffer und Marx[5]) hatten in ihrer bedeutungsvollen Arbeit »Die Bildungsstätte der Choleraschutzstoffe« angegeben, dafs der präventive Stoff sich im Blute vom Meerschweinchen frühestens am 3. Tage nach der Injektion (intraperitoneal) von Cholerakultur zeigte, dafs er aber rasch stieg bis zum 8. Tage, um darauf langsam wieder zu verschwinden, und dafs ähnliche Verhältnisse für Agglutinin gelten. Entsprechende Schwingungen fand Ladislaus Deutsch[6]) für Typhusagglutinin und »Pouvoir préventif«. Die erste Arbeit, die sich nach einer genauen Methode mit den Schwingungen der Agglutinine im Blute beschäftigt hat und diesen Schwingungen von Tag zu Tag folgte, ist die von Jörgensen und Madsen[7]). Unsere Resultate stimmten im grofsen und ganzen mit den oben genannten Autoren überein.

Einige Schwankungskurven haben wir in umstehenden Figuren (S. 280) festgelegt.

I. Einflufs der Abkühlung.

Lode[8]) machte Meerschweinchen empfänglich für verschiedene Infektion durch Abkühlung; eine Verminderung des Alexingehalts liefs sich bei solchen Tieren nachweisen. Graziani[9]) hat den Einflufs der umgebenden Temperatur und des kalten Bades auf die Hervorbringung von agglutinierender Substanz bei den für den Typhus immunisierten Tieren studiert und fand, dafs die Temperatur der Umgebung einen bedeutenden Einflufs auf die Hervorbringung von agglutinierender Substanz für den Typhusbazillus seitens des tierischen Organismus ausübt, insofern die niedrigen Temperaturen zwischen $+2^0$ und $+4^0$ sie be-

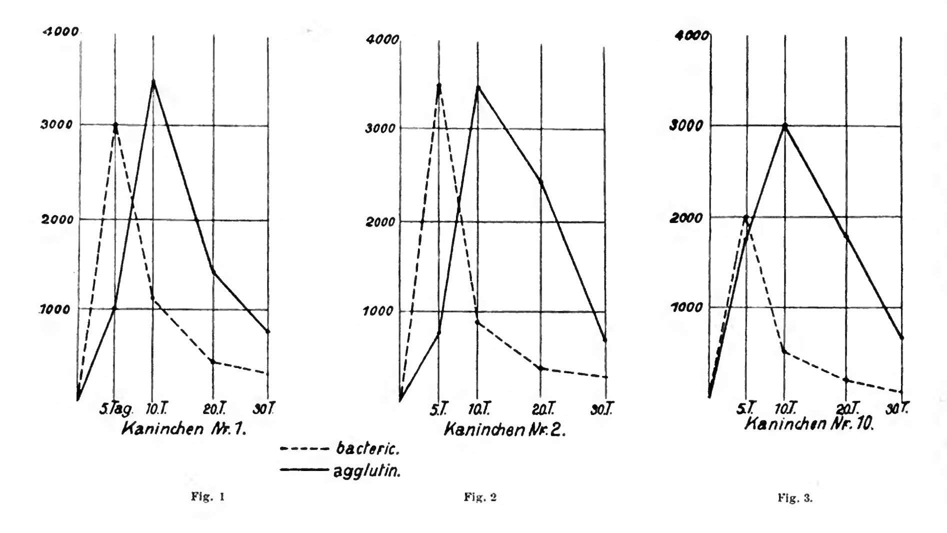


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3.

günstigen, und dafs der Gehalt des Blutserums an selben beachtenswerte Verminderung zeigt in gleichem Mafse als die Temperatur ansteigt.

Versuch 1.

Kaninchen Nr. 1 (31).[1] 2100 g.

Geringe Blutentnahme (Serum 1). 3 Stunden lang bei + 15° gehalten. Am 2. (Ser. 2) 3. (Ser. 3) 4. (Ser. 4) und 7. (Ser. 5) Tag Blut entnommen.

Die Abkühlung erreichte ich bei den Tieren durch Eintauchen in kaltes Wasser. Darauf wurden die Tiere gut abgewischt und in Heu gesteckt.

Tabelle II.

Serum Nr.	Agglutinationstiter	Titer im bakterizid. Reagensglasversuch
1	1 : 800	$^1/_{300}$
2	1 : 1200	$^1/_{500}$
3	1 : 1000	$^1/_{400}$
4	1 : 1000	$^1/_{400}$
5	1 : 1000	$^1/_{250}$

Fig. 4.

Versuch 2.

Kaninchen Nr. 2 (31). 2800 g.

Das Tier wird 3 Stunden lang bei + 2° gehalten, und dann Blutentnahme aus der Kruralis (Ser. 1). Am nächsten Tag stirbt das Tier. Sektionsbefund negativ. Vor dem Tode in der Agone wird Blut entnommen (Ser. 2).

Tabelle III. Kaninchen Nr. 2.

	Agglutinationstiter	Titer im bakterizid. Reagensglasversuch
vor Abkühlung	1 : 800	$^1/_{300}$
Serum 1	1 : 1000	$^1/_{300}$
» 2	1 : 1000	$^1/_{150}$

1) Zahl der seit der Bakterienspritzung verflossenen Tage.

Versuch 3.

Kaninchen Nr. 3 (31). 2500 g.

3 Stunden bei + 10° gehalten. Dann Blutentnahme aus Ohrvene (Ser. 1). 3 Tage später wird demselben Tier wieder, nachdem es zuvor 3 Stunden bei + 13° gehalten war, Blut entnommen (Ser. 2). Am 2. (Ser. 3), 3. (Ser. 4), 4. (Serum 5) und 7. Tage (Ser. 6) nach der letzten Abkühlung Blut entnommen.

Tabelle IV. Kaninchen Nr. 3.

	Agglutinations-titer	Titer im bakterizid. Reagensglas-versuch
vor der Abkühl.	1 : 700	$^1/_{400}$
Serum 1	1 : 900	$^1/_{400}$
» 2	1 : 1000	$^1/_{400}$
» 3	1 : 1000	$^1/_{500}$
» 4	1 : 800	$^1/_{500}$
» 5	1 : 800	$^1/_{300}$
6 6	1 : 700	$^1/_{300}$

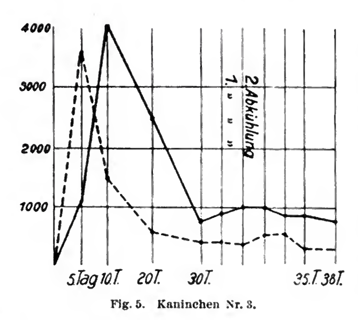


Fig. 5. Kaninchen Nr. 3.

Betrachtet man nun diese Ergebnisse, so findet man in dem Agglutiningehalt und in der bakteriziden Kraft eine vorübergehende Zunahme nach der mäfsigen Abkühlung. Aber die Zunahme der bakteriziden Substanzen ist nicht so merklich wie die der Agglutinine. Diese vorübergehende Zunahme war wider Erwarten. Wir wollen es mit anderen Tieren unter anderen Verhältnissen noch weiter prüfen.

Dafs die Abkühlung auf sämtliche Organe einen schädigenden Einflufs ausübt, haben viele Autoren schon festgestellt; in unserem Falle scheint es, als ob dadurch die antikörperbildende

Funktion der Organe nicht so sehr geschädigt, als vielmehr günstig beeinflufst worden wäre.

Man mufs aber berücksichtigen, dafs die Empfänglichkeit für Abkühlung natürlich individuell verschieden ist. So sehen wir bei Nr. 2 einen ungünstigen Einflufs, der zur Verminderung der bakteriziden Substanzen vor dem Tode führte.

Dazu kommt noch der Grad der Abkühlung als beeinflussendes Moment, indem bei unserem Versuch 5—10° eine günstige, + 2° dagegen eine ungünstige Wirkung hatten.

II. Einflufs der Erwärmung.

Neulich hat Lissauer[10]) die hämolytischen Eigenschaften des Blutserums abgekühlter und erwärmter Tiere studiert, und fand einerseits eine teilweise sehr bedeutende Abnahme der hämolytischen Fähigkeiten nach der Abkühlung und anderseits eine deutliche, zum Teil sehr erhebliche Verstärkung derselben Fähigkeiten nach der Erwärmung.

Die Ergebnisse unserer Versuche haben wir in folgenden Tabellen zusammengestellt:

Tabelle V.

Kaninchen Nr.	temperatur Wasser-	Dauer der Erwärmung in Minuten	Dauer der Behandlung in Tagen
10 (33)[1])	43°	10	3
11 (33)	44°	8	2
12 (33)	48°	3	2
13 (33)	45°	5	3

Die Erwärmung erreichte ich dadurch, dafs ich die Tiere 2—3 Tage hintereinander täglich 3—10 Minuten in heifses Wasser von ca. 43—48° C tauchte. Die Temperaturerhöhung schwankte zwischen 3,5°—4,5°.

Am Tage vor (Ser. 1) und am Tage nach (Ser. 2) der Behandlung wurde das Blut entnommen und untersucht.

1) Zahl in Klammer bedeutet die Zahl der seit der Bakterieneinspritzung verflossenen Tage.

Tabelle VI.

Kaninchen Nr.	Agglutinationstiter		Titer im bakteriziden Reagensglasversuch	
	Serum 1	Serum 2	Serum 3	Serum 4
10	1 : 500	1 : 800	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$
11	1 : 500	1 : 500	$^1/_{180}$	$^1/_{250}$
12	1 : 400	1 : 1000	$^1/_{300}$	$^1/_{400}$
13	1 : 350	1 : 800	$^1/_{450}$	$^1/_{600}$

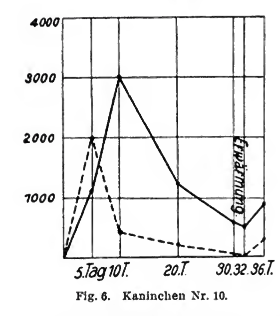


Fig. 6. Kaninchen Nr. 10.

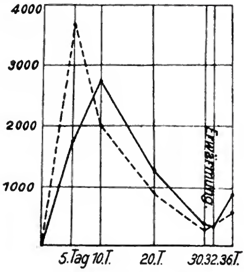


Fig. 7. Kaninchen Nr. 13.

In allen Fällen zeigen die agglutinierenden wie bakteriziden Eigenschaften des Blutserums eine merkliche Vermehrung.

III. Einfluß des Alkohols.

Was die bakterizide Kraft des Blutserums alkoholisierter Tiere betrifft, so wurden dieselben nur von wenigen Autoren geprüft. Laitinen[11]) fand bei seinen Versuchen keine Differenzen gegenüber der bakteriziden Kraft des Serums normaler Tiere. Thomas[12]) und Abbot & Bergey[13]) sahen ein Verschwinden der Alexine bei alkoholvergifteten Tieren. Friedberger[14]) fand bei chronisch alkoholisierten Tieren die Bildung von Choleraambozeptoren ziemlich bedeutend herabgesetzt, eine einmalige Alkoholdosis hatte dagegen einen günstigen Einfluſs auf die Produktion dieser Stoffe. C. Fränkel[15]) sah sowohl von einmaligen Dosen wie von öfterer

Alkoholdarreichung einen günstigen Einflufs auf die Bildung spezifisch bakteriolytischer Stoffe nach Injektionen sowohl von Cholera- wie von Typhusbazillen.

Trommsdorff[16]) fand, dafs die Tiere, die längere Zeit hindurch oder auch nur einmal eine gröfsere Dosis Alkohol erhalten hatten, weniger spezifische Immunkörper als entsprechende Kontrolltiere bildeten. Er fand auch anderseits, dafs kleine Alkoholdosen auf den Prozefs der Immunkörperbildung zweifelsohne begünstigend wirkten. Durch umfassende Untersuchungen sind wir über die Art und Weise unterrichtet, welchen Einflufs die Alkoholisierung auf die Schutzkörperbildung ausübt. Dagegen wurden die Untersuchungen über ihren Einflufs auf die Schwankungen des Antikörpergehaltes vom Blutserum noch nicht unternommen.

Ich habe mich in einer Reihe von Versuchen mit dieser Frage beschäftigt. Meine Versuche wurden mit Kaninchen angestellt, welchen 31 Tage vorher einmal Typhusbazillen eingespritzt wurden. Zur Alkoholisierung verwandte ich subkutane Injektion einer 50proz. Alkohollösung. Am Tage nach der letzten Alkoholinjektion wurde Blut entnommen, und dann die bakterizide Fähigkeit und das Agglutinationsvermögen desselben untersucht.

Tabelle VII.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht	Dosis der aufgenommenen Alkohollösung					Gesamtmenge von Alkohol absol.
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	
7 (31)	1800	10 ccm nachm.	10 ccm früh 5 ccm abends	10 ccm früh 10 ccm abends	10 ccm mittag		27,5 ccm
8 (31)	2000	5 ccm nachm.	5 ccm früh 5 ccm abends	5 ccm früh 5 ccm abends	5 ccm früh 5 ccm abends		17,5 »
9 (31)	1600	10 ccm abends	5 ccm früh 10 ccm abends	5 ccm früh 10 ccm abends	5 ccm früh 10 ccm abends	5 ccm früh	30,0 »

Tabelle VIII.

Kaninchen Nr.	Agglutinationstiter		Titer im bakteriziden Reagensglasversuch	
	vor der Alkoholisier.	nach der Alkoholisier.	vor der Alkoholisier.	nach der Alkoholisier
7	1 : 700	1 : 800	$^1/_{600}$	$^1/_{1000}$
8	1 : 1000	1 : 1000	$^1/_{600}$	$^1/_{850}$
9	1 : 800	1 : 800	$^1/_{250}$	$^1/_{400}$

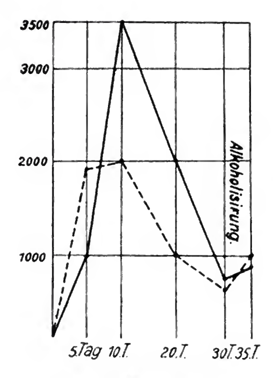


Fig. 8. Kaninchen Nr 7.

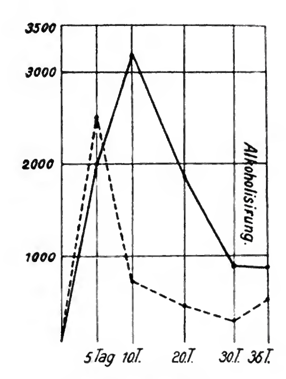


Fig. 9. Kaninchen Nr. 9.

Wie man auf der vorstehenden Übersichtstabelle sieht, ist es zwar unleugbar, dafs der Agglutiningehalt des Serums bei der Alkoholisierung nicht sehr beeinflufst worden ist. Es ist aber bemerklich, dafs kurzdauernde, nur durch wenige Tage fortgesetzte Behandlung mit Alkohol imstande ist, die Produktion der bakteriziden Stoffe zu beschleunigen.

Dieses Resultat steht im Einklang mit den ähnlichen von Friedberger und von Trommsdorff erzielten Ergebnissen.

IV. Einflufs einiger Organextrakte.

Vechi[17]) studierte die Wirkung einiger Organextrakte bei den akuten Infektionsprozessen und zog den Schlufs, dafs die Organextrakte als Reizmittel auf gewisse Gewebe und Parenchyme wirken und ihre Wirkung wahrscheinlich von den sogenannten Nucleoproteiden herrührt, die in den Kreislauf des Organismus gelangen. Er fügte hinzu, dafs dieser Reiz aber — wenigstens bei Anwendung von Leber-, Milz- und Nebennierenextrakt bei der Bac. icteroide-Infektion — das Widerstandsvermögen des Organismus gegen die Infektion in merklicher Weise nicht zu erhöhen vermag.

Galeotti[18]), Guerrini[19]), Ghedini[20]) und Cafiero[21]) haben auch schon die Reizwirkung der Organextrakte an den Zellelementen der verschiedenen inneren Organe angegeben.

Diese von verschiedenen Forschern beobachteten Erscheinungen führten mich dazu, zu untersuchen, ob die in den immunisierten Organismus eingeführten Organextrakte einen besonderen Einflufs auf die Immunkörperproduktion auszuüben vermögen, d. h. ob die allgemeine Reizwirkung, welche die Einspritzung von Organextrakten im ganzen Körper hervorruft, zu einer Wiedererhöhung der Immunkörperproduktion führen kann.

Die Organextrakte wurden derart bereitet, dafs, nachdem das Tier durch Verblutung getötet worden ist, die Organe steril herausgenommen und gewogen wurden, mit Glaspulver 15 Min. lang in Mörsern zerrieben, mit zwei Teilen steriler physiologischer Kochsalzlösung emulgiert, 24 Stunden in den Eisschrank gestellt, dann geschüttelt und zentrifugiert wurden. Die Extrakte wurden subkutan injiziert.

Tabelle IXa.

a) Immunisierte Kaninchen, mit Hundemilzextrakt behandelt.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht	Menge der Extrakte	Dauer der Injektion
4 (25)	1600	täglich 1,0 ccm	5 Tage
5 (25)	2000	täglich 1,0 ccm	3 »
6 (25)	2500	täglich 1,5 ccm	3 »
14 (25)	1500	täglich 1,5 ccm	5 »

Tabelle IXb.

b) Immunisierte Kaninchen, mit Hundeleberextrakt behandelt.

15 (25)	2600	täglich 1,0 ccm	5 Tage
16 (25)	3000	täglich 1,0 ccm	3 »
17 (25)	1800	täglich 1,5 ccm	5 »
18 (25)	2000	täglich 1,5 ccm	3 »

Ein Tag vor (Ser. 1) und nach (Ser. 2) der Extraktinjektion wurde Blut entnommen und das Agglutinationsvermögen und die bakterizide Wirkung des Serums untersucht.

Erhaltene Resultate haben wir in folgenden Tabellen zusammengestellt:

Tabelle X-a.

Kaninchen Nr.	Agglutinationstiter		Titer im bakteriziden Reagensglasversuch	
	Serum 1	Serum 2	Serum 1	Serum 2
4	1 : 1200	1 : 1400	$^1/_{800}$	$^1/_{1200}$
5	1 : 1000	1 : 1100	$^1/_{400}$	$^1/_{600}$
6	1 : 700	1 : 850	$^1/_{250}$	$^1/_{400}$
14	1 : 600	1 : 600	$^1/_{400}$	$^1/_{800}$

Tabelle Xb.

Kaninchen Nr.	Agglutinationstiter		Titer im bakteriziden Reagensglasversuch	
	Serum 1	Serum 2	Serum 1	Serum 2
15	1 : 1800	1 : 1800	$^1/_{400}$	$^1/_{650}$
16	1 : 900	1 : 1000	$^1/_{600}$	$^1/_{600}$
17	1 : 850	1 : 1200	$^1/_{250}$	$^1/_{400}$
18	1 : 900	1 : 1200	$^1/_{600}$	$^1/_{650}$

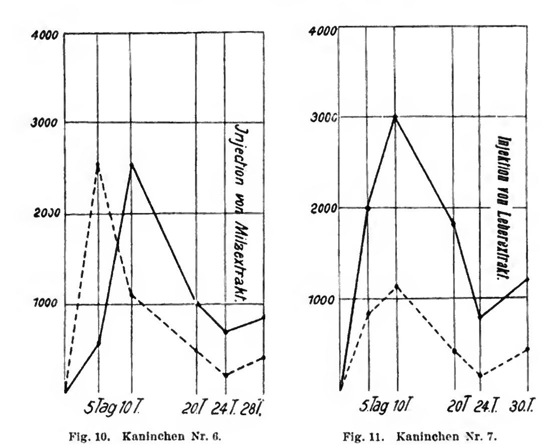


Fig. 10. Kaninchen Nr. 6.

Fig. 11. Kaninchen Nr. 7.

Wir können also die Vermehrung der Agglutinine, besonders der bakteriziden Stoffe, nach der Organextraktinjektion bemerken, wenn sie sich auf Hundemilz- und Hundeleberextrakt beschränkte. Pfeiffer und Issaef konnten zeigen, dafs man beim Meerschweinchen durch vorherige Injektion von verschiedenen Substanzen, die eine Entzündung auszulösen imstande sind, einen gewissen allgemeinen, d. h. nicht spezifischen Schutz gegen Bakterien erzielen kann, der im Stadium der Höhe der Entzündung am wirksamsten ist und bis zum Abklingen vorhält. So gelang

es Issaef (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 16) durch vorherige Injektion verschiedener Flüssigkeiten, den normalen Meerschweinchen einen Schutz gegen die tödliche Dosis des Cholera vibrio zu verleihen. Er hat gesehen, dafs die Stärke der Zellenreaktion des Organismus (Leukozytenvermehrung im Blute und Peritoneal-Exsudate) von der Qualität der eingespritzten Flüssigkeit abhängig ist. Die Kochsalzlösung in seinen Versuchen regte diese Reaktion am wenigsten an, dann kommt in aufsteigender Reihe das Blutserum gesunder Menschen, Nukleinsäurelösung oder Tuberkulin.

Dafs jeder Zellreiz, mag er chemischer oder physikalischer Natur sein, eine Änderung im Gleichgewichtszustande der Zelle und damit auch in dem Stoffwechsel der Zelle hervorbringen mufs, dürfen wir durch die umfangreichen Versuche vieler Autoren als bewiesen ansehen. Denn eine solche Annahme bildet die Grundlage für das Verständnis der auftretenden Reizwirkungen.

Schlufsbetrachtung.

Wir haben zu prüfen unternommen, ob die Funktion der immunkörperbildenden Organe durch irgendwelchen Reiz günstig beeinflufst und die Menge der im Blute vorhandenen, schon im Abnehmen begriffenen Immunkörper wieder erhöht werden kann. Es war deswegen wichtig, besonders die abfallende Phase des Immunkörpergehaltes im Serum der immunisierten Tiere zu beobachten.

Daher haben wir zuerst vielen Kaninchen Typhusbazillen eingeimpft, die agglutinierende und bakterizide Kraft des Serums untersucht, und die so konstatierte Abfallphase benutzt, die Wirkung von Kälte, Wärme, Alkohol und Organextrakten auf die Immunstoffbildung zu beobachten. Stäubli[22]) stellte fest, dafs die Entstehung der Typhusagglutinine in dem Meerschweinchenkörper je nach der Individualität der Tiere sehr verschieden ist. Doch haben wir bei unseren Kaninchen die Abfallphase trotz temporärer und quantitativer Unterschiede der einzelnen Tiere ziemlich genau bestimmen können.

Obwohl unser Versuch nicht umfangreich genug ist, wollen wir doch unsere Ergebnisse zusammenstellen:

1. Bei mäfsig angewandter Abkühlung wurde die Antikörperbildung der immunisierten Tiere wieder gesteigert.
2. Die Erwärmung wirkte ebenfalls auf die Immuntiere sehr günstig ein, so dafs die Immunkörperproduktion bei denselben wieder erhöht wurden.
3. Auch geringe Alkoholdosis bei kurzer Dauer rief eine Erhöhung der immunstoffbildenden Funktionen hervor.
4. Injektion von Organextrakten bewirkte auch eine Erhöhung der Fähigkeit der Immunstoffbildung.

Wir glauben, dafs diese gewonnenen Resultate einiges Interessante für die Immunitätslehre bieten.

Literaturverzeichnis.

1. Jörgensen und Madsen, Festschrift, edited by Salomonsen, Kopenhagen 1902.
2. Levin, ibid.
3. Neifser und Wechsberg, Münch. med. Wochenschr., 1901.
4. Stern und Korte, Berlin. klin. Wochenschr., 1904, Nr. 9.
5. Pfeiffer und Marx, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 27, 1898.
6. Ladislaus Deutsch, Ann. de l'Inst. Pasteur, 1899.
7. Jörgensen und Madsen, Festschrift ved Indvielsen af Staten Seruminstitut. Kopenhagen 1902. Zentralbl. f. Bakteriologie, Orig.-Bd. 38, 1905.
8. Lode, Archiv f. Hygiene, Bd. 28.
9. Graziani, Zentralbl. f. Bakteriol., Original-Bd. 42.
10. Lissauer, Archiv f. Hygiene, Bd. 63.
11. Laitinen, act. Societ. scient. Fenicae, Bd. 29, Jena 1901.
12. Thomas, Archiv f. experim. Pathologie, Bd. 32, 1903.
13. Abbot und Bergey, Zentralbl. f. Bakt, Original-Bd. 32, 1902.
14. Friedberger, Berlin. klin. Wochenschr., 1904.
15. C. Fränkel, Berlin. klin. Wochenschr., 1905.
16. Trommsdorff, Archiv f. Hygiene. Bd. 59, 1906.
17. Vecchi, Zentralbl. f. Bakt., Original-Bd. 37, 1904.
18. Galeotti, Lo sperimentale. Vol. 54, Fasc. 3.
19. Guerrini, La Riforma med. anno, 19, 1903.
20. Ghedini, ebenda.
21. Cafiero, ebenda.
22. Stäubli, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 36, Nr. 2.

Über den Einflufs einiger Eiweifskörper und anderer Kolloide auf die Hämolyse.

Von

Dr. **Kurt Meyer,**
I. Assistenten am Institute.

(Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie an der Universität Strafsburg i/Els. Direktor: Prof. Dr. Forster.)

Neben seinen vielen aktiven Fähigkeiten zeigt das normale Blutserum auch Hemmungswirkungen in grofser Zahl. Es braucht nur an die Hemmung der autolytischen Prozesse, der Pepsin-, Trypsin-, Lab- und anderer Fermentwirkungen erinnert zu werden. Auch gegenüber den hämolytischen Vorgängen, wie der Saponin-, der Tetanolysin und der Staphylolysinhämolyse ist ein solcher Einflufs des Serums schon seit längerer Zeit bekannt, und man hat diese Wirkung in verschiedener Weise zu erklären versucht, indem teils Lipoide wie das Cholesterin, teils spezifische Substanzen von Eiweifscharakter dafür verantwortlich gemacht wurden. In neuerer Zeit wurde auch eine Hemmung der durch Seifen (v. Liebermann[1]), Noguchi[2]) und durch gallensaure Salze (Bayer[3]) hervorgerufenen Hämolyse beobachtet, und es ergab sich bei näherer Untersuchung, dafs diese hemmende Wirkung auch den isolierten Eiweifskörpern

1) v. Liebermann, Biochemische Zeitschr. Bd. 4, 25, 1907. Archiv f. Hygiene Bd. 62, 277, 1907.

2) H. Noguchi, Biochem. Zeitschr. Bd. 6, 327, 1907.

3) G. Bayer, Biochem. Zeitschr. Bd. 5, 368, 1907.

des Serums zukommt. v. Liebermann und Noguchi studierten weiter die interessanten Eigenschaften der Seifen-Serumgemische und suchten die gewonnenen Ergebnisse zu einer Deutung der Komplementwirkungen des normalen Serums zu verwerten. Den Ursachen der Hemmung durch die Eiweiſskörper gingen die Autoren nicht weiter nach. Hierfür, wenn möglich, eine Erklärung zu finden, war das Ziel meiner Untersuchungen.

Ich legte meinen Versuchen die Hämolyse durch taurocholsaures Natron, ölsaures Natron und Saponin (alles Präparate von Merck) zugrunde. Die Angaben der Autoren bezüglich der hemmenden Wirkung des Serums — ich verwendete stets inaktiviertes Pferdeserum und eine 5 proz. Aufschwemmung gewaschener Hammelblutkörperchen — konnte ich ohne weiteres bestätigen. Was den Grad der Hemmung betrifft, so geben die folgenden Zahlen darüber Aufschluſs (Tabelle I).

Tabelle I.

	Ohne Serum	+ 0,1 ccm Serum
0,3 mg Seife	k. H.	k. H.
0,2 » »	k. H.	0
0,1 » »	k. H.	0
0,05 » »	k. H.	0
0,02 » »	0	0
8,0 mg taurocholsaures Natron	k. H.	k. H.
4,0 » » »	k. H.	0
2,0 » » »	k. H.	0
1,0 » » »	k. H.	0
0,5. » » »	0	0
0,2 » Saponin	k. H.	k. H.
0,1 » »	k. H.	0
0,05 » »	k. H.	0
0,02 » »	0	0

Verwendete Blutmenge, wie auch in den folgenden Versuchen 1 ccm 5 % Hammelblut. Alle Röhrchen mit physiol. NaCl-Lösung auf gleiches Volumen gebracht. k. H. = komplette Hämolyse, i. H. = inkomplette Hämolyse, 0 = keine Hämolyse.

Zur Lösung von 1 ccm Blut ist also nach Zusatz von 0,1 ccm Serum bei Seife das 6fache, bei Na. taurochlol. das 8fache, bei

Saponin das 4fache der sonst komplett lösenden Menge erforderlich.

Die Hemmungswirkung des Serums auf die Saponinhämolyse ist von Ransom[1]) auf den Cholesteringehalt bezogen worden. Serum, dem die Lipoide durch Ätherextraktion entzogen waren, fand er unwirksam. Ich selbst beobachtete in einigen Versuchen nach Ausschütteln mit Äther noch eine Hemmung, was aber vielleicht dadurch bedingt wurde, dafs die manuell ausgeführte Ausschüttelung nicht vollständig gelungen war. Dagegen hatte die Ausätherung des Serums keine Beeinträchtigung der Wirkung gegenüber der Seifenhämolyse und entsprechend den Angaben Bayers gegenüber der Hämolyse durch taurocholsaures Natron zur Folge. Demgemäfs bewirkte Cholesterinzusatz, abweichend vom Befunde Ransoms bei der Saponinhämolyse, keine Hemmung der Seifen- und Gallensalzhämolyse, wie aus der nachstehenden Tabelle hervorgeht:

Tabelle II.

0,02 mg Seife		0
0,05 » »		k. H.
0,05 » »	+ 0,1 ccm 1 % Cholesterinsuspension	k. H.
0,05 » »	+ 0,2 » » »	k. H.
0,05 » »	+ 0,5 » » »	k. H.
0,5 mg taurocholsaures Natron		0
1,0 » » »		k. H.
1,0 » » »	+ 0,1 ccm 1 % Cholesterinsuspension	k. H.
1,0 » » »	0,2 » » »	k. H.
1,0 » » »	0,5 » » »	k. H.

Ich untersuchte nun, inwieweit tatsächlich die Hemmungswirkung des Serums auf den Eiweifskörpern beruht, wie Liebermann und Bayer es angegeben hatten. Gegen die bei der Darstellung der Eiweifskörper durch Ammonsulfatfällung stets gegebene Gefahr, dafs fremde Substanzen mitgerissen werden und Eigenschaften der Eiweifskörper vortäuschen, suchte ich mich wenigstens beim Albumin dadurch zu schützen, dafs ich ein wiederholt unkristallisiertes Präparat verwandte, während ich mich beim Globulin mit einem einfach durch Halbsättigung ge-

1) Ransom, Deutsche med. Wochenschr. Bd. 27, 194, 1901.

wonnenen Präparat begnügen mufste. Es wurden sowohl vom Globulin wie vom Albumin 10proz. Lösungen hergestellt, da solche ungefähr dem durchschnittlichen Eiweifsgehalt des Serums entsprechen. Ganz genau konnte die genannte Konzentration nicht innegehalten werden, da die Eiweifskörper in noch feuchtem Zustande wieder gelöst wurden, um einem Unlöslichwerden zuvorzukommen. Wie beim Serum wurden 0,1 ccm der Lösungen dem hämolytischen Agens zugesetzt. Nachstehend die Ergebnisse:

Tabelle III.

		+ 0,1 ccm Albumin	+ 0,1 ccm Globulin
0,3 mg Seife		k. H.	k. H.
0,2 » »		0	0
0,1 » »		0	0
8,0 mg taurocholsaures Natron		k. H.	k. H.
4,0 » » »		i. H.	i. H.
2,0 » » »		0	0
0,05 » Saponin	k. H.	k. H.	k. H.
0,02 » »	0	0	0

Es üben also Albumin wie Globulin die gleiche hemmende Wirkung auf die Seifen- und die Gallensalzhämolyse aus, wie sie das Serum besitzt, und zwar in der entsprechenden Konzentration. Bei dem Globulin kann nach der Art der Darstellung allerdings die Möglichkeit der Beimengung einer besonderen hemmenden Substanz nicht ausgeschlossen werden. Wenn Bayer dies tun zu können glaubt, weil bei der Pepsin- und Trypsinverdauung zugleich mit dem Globulin auch die Hemmungswirkung verschwindet, so kann ich mich dieser Schlufsfolgerung nicht anschliefsen, da natürlich auch ein spezifisch hemmender Körper durch die Verdauung zerstört werden kann. Bei dem von mir verwandten Serumalbumin aber kann man wohl mit ziemlicher Sicherheit die Hemmungswirkung auf dieses selbst zurückführen, da kaum anzunehmen ist, dafs ein fremder Körper dem Albumin beim wiederholten freiwilligen Auskristallisieren so hartnäckig anhaften würde.

Beim Saponin dagegen fehlt, wie nach den Versuchen mit ausgeäthertem Serum zu erwarten war, jede Spur einer Hemmungswirkung des Albumins wie des Globulins.

Um zu entscheiden, ob in der eben nicht mehr lösenden Kombination des Eiweiſskörpers und der Seife die Giftigkeit nur herabgesetzt oder ganz aufgehoben ist, versetzte ich eine gleichbleibende Menge Blut mit steigenden Mengen der Mischung. Es zeigte sich, daſs jede Giftwirkung verschwunden war.

Tabelle IV.

0,2 mg	Seife	+ 0,1	Serumalbumin	0
0,4 »	»	+ 0,2	»	0
0,6 »	»	+ 0,3	»	0
0,2 »	Seife	+ 0,1	Serumglobulin	0
0,4 »	»	+ 0,2	»	0
0,6 »	»	+ 0,3	»	0

Nachdem so nachgewiesen war, daſs den Bluteiweiſskörpern bereits in geringen Mengen eine starke Hemmungswirkung gegenüber den Seifen- und Gallensäurenhämolyse zukommt, war es natürlich wünschenswert, diese Fähigkeit durch ihre physikalischen oder chemischen Eigenschaften zu erklären.

Zunächst schien die Vermutung berechtigt, daſs die Kolloidnatur der Eiweiſskörper dabei von Bedeutung sei. Wenn auch bei den geringen, in Betracht kommenden Konzentrationen nicht daran gedacht werden konnte, daſs eine Hemmung der Reaktionsgeschwindigkeit vorliege [1]), da ja erst bei höherer Konzentration der Kolloide ein Einfluſs auf molekulare Vorgänge zur Geltung kommt [2]), so lieſsen sich doch Analogien zu der Schutzwirkung der Kolloide gegen die Ausflockung von Suspensionen vermuten, zumal ja zwischen der als solche zu deutenden Hämagglutination und der Hämolyse nahe Beziehungen bestehen. Ich prüfte daher, ob durch Zusatz von anderen Kolloiden ebenfalls die Grenzen der Seifen-, Gallensalz- und Saponinhämolyse verschoben würden. Zur Untersuchung kamen 10proz. Lösungen von Dextrin, Gummi arabicum und Gelatine. Nachstehend die Protokolle.

---

1) Reformatsky, Zeitschr. f. physikal. Chemie 213, 316, 1891.

2) Kurt Meyer, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 7, 393, 1905.

Tabelle V.

0,05 mg Seife				k. H.
0,02 »	»			0
0,05 »	»	+ 0,2	Dextrin	k. H.
0,02 »	»	+ 0,2	»	0
0,05 »	»	+ 0,4	»	k. H.
0,02 »	»	+ 0,4	»	i. H.
0,05 »	»	+ 0,6	»	k. H.
0,02 »	»	+ 0,6	»	k. H.
0,05 »	»	+ 0,2	Gummi	k. H.
0,02 »	»	+ 0,2	»	i. H.
0,05 »	»	+ 0,4	»	k. H.
0,02 »	»	+ 0,4	»	i. H.
0,05 »	»	+ 0,6	»	k. H.
0,02 »	»	+ 0,6	»	k. H.
0,05 »	»	+ 0,2	Gelatine	k. H.
0,02 »	»	+ 0,2	»	0
0,05 »	»	+ 0,4	»	k. H.
0,02 »	»	+ 0,4	»	i. H.
0,05 »	»	+ 0,6	»	k. H.
0,02 »	»	+ 0,6	»	i. H.
		1,0	Gelatine	0 (Agglutination)

1,0 mg	taurocholsaures	Natron			k. H.
0,5 »	»	»			0
1,0 »	»	»	+ 0,2	Dextrin	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,2	»	0
1,0 »	»	»	+ 0,4	»	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,4	»	k. H.
1,0 »	»	»	+ 0,1	»	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,1	»	i. H.
1,0 »	»	»	+ 0,2	Gummi	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,2	»	i. H.
1,0 »	»	»	+ 0,4	»	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,4	»	i. H.
1,0 »	»	»	+ 0,6	»	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,6	»	k. H.
1,0 »	»	»	+ 0,2	Gelatine	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,2	»	0
1,0 »	»	»	+ 0,4	»	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,4	»	i. H.
1,0 »	»	»	+ 0,6	»	k. H.
0,5 »	»	»	+ 0,6	»	i. H.
			1,0	Dextrin	0 (schwache Agglutination)

0,05 mg Saponin		k. H.
0,02 » »		0
0,05 » »	+ 0,2 Dextrin	k. H.
0,02 » »	+ 0,2 »	0
0,05 » »	+ 0,4	k. H.
0,02 » »	+ 0,4 »	0
0,05 » »	+ 0,6 »	k. H.
0,02 » »	+ 0,6 »	i. H.
0,05 » »	+ 0,2 Gummi	k. H.
0,02 » »	+ 0,2 »	0
0,05 » »	+ 0,4 »	k. H.
0,02 » »	+ 0,4 »	i. H.
0,05 » »	+ 0,6 »	k. H.
0,02 » »	+ 0,6 »	k. H.
0,05 » »	+ 0,2 Gelatine	k. H.
0,02 » »	+ 0,2 »	0
0,05 » »	+ 0,4 »	k. H.
0,02 » »	+ 0,4 »	i. H.
0,05 » »	+ 0,6 »	k. H.
0,02 » »	+ 0,6 »	k. H.
	1,0 Gummi	0 (schwache Agglutination)

Jegliche Hemmungswirkung von seiten der Kolloide war also ausgeblieben. Es zeigte sich vielmehr, daſs bei stärkerem Kolloidzusatz die zur Hämolyse ausreichende Menge sowohl bei der Seife wie beim taurocholsauren Natron und beim Saponin geringer wurde. Dagegen wirkte das Kolloid für sich auch in noch gröſserer Menge nicht hämolytisch, wohl aber agglutinierend, wie ja bereits von Weil[1]) eine Agglutinationswirkung der Gelatine auf Typhus- und Cholerabakterien beobachtet wurde. Man darf vielleicht annehmen, daſs die mit der Agglutination verbundene Schädigung der Blutkörperchen, die von Landsteiner und v. Eisler[2]) auch bei der Kieselsäureagglutination beobachtet worden ist, sie dem lösenden Einfluſs der hämolytischen Agentien leichter zugänglich macht.

Hatte demnach eine charakteristische physikalische Eigenschaft der Bluteiweiſskörper keine Anhaltspunkte zur Erklärung der Hemmungswirkung geliefert, so lag es nahe hierfür chemische

1) Weil, Zentralbl. f. Bakteriol. I. Bd. 37, 426, 1904.

2) Landsteiner und v. Eisler, Zentralbl. f. Bakteriol. I. Bd. 39, 309, 1905.

Eigentümlichkeiten heranzuziehen. Durch vergleichende Prüfung verschiedener möglichst reiner Eiweifskörper sollte festgestellt werden, ob und inwieweit es sich hier um eine Gruppeneigentümlichkeit der Eiweifssubstanzen handelte. Untersucht wurden als nahe stehender tierischer Eiweifskörper Eieralbumin, als sich weiter entfernender Körper tierischer Herkunft das Kasein, schliefslich als ein pflanzlicher Eiweifskörper das Edestin; als sich erheblich in ihren Eigenschaften von diesen Körpern unterscheidende Albuminoidsubstanz war dann noch die bereits untersuchte Gelatine zum Vergleich heranzuziehen.

Eieralbumin konnte ich leider nicht kristallisiert erhalten; es fiel stets in Globuliten aus, vermutlich weil mir während des Winters nicht genügend frische Eier zur Verfügung standen. Da es aber wiederholt gelöst und stets dem freiwilligen Ausfallen überlassen wurde, so darf es wohl hinsichtlich seiner Reinheit einem kristallinischen Präparat gleichgestellt werden. Das Kasein war nach Hammarsten dargestellt und von Merck bezogen. Edestin war ein kristallinisches Präparat der Höchster Farbwerke. Auch hier gelangten, um einen Vergleich zu ermöglichen, 10proz. Lösungen zur Anwendung, die bei Edestin und Kasein mit der eben ausreichenden Menge Natronlauge hergestellt waren. Das Ergebnis geht aus Tabelle VI hervor.

Tabelle VI.

0,05	mg	Seife					k. H.
0,02	»	»					0
0,05	»	»		+ 0,1	ccm	Eieralbumin	k. H.
0,02	»	»		+ 0,1	»	»	0
0,05	»	»		+ 0,1	»	Kasein	k. H.
0,02		»		+ 0,1	»	»	0
0,05	»	»		+ 0,1	»	Edestin	k. H.
0,02	»	»		+ 0,1	»	»	0
1,0	»	taurocholsaures	Natron				k. H.
0,5	»	»					0
1,0	»	»	»	+ 0,1	»	Eieralbumin	k. H.
0,5	»	»	»	+ 0,1	»	»	0
1,0				+ 0,1		Kasein	k. H.
0,5		»	»	+ 0,1	»	»	0
1,0	»	»	»	+ 0,1	»	Edestin	k H.
0,5			»	+ 0,1		»	0

0,05 mg Saponin		k. H.
0,02 » »		0
0,05 » »	+ 0,1 ccm Eieralbumin	k. H.
0,02 » »	+ 0,1 » »	0
0,05 » »	+ 0,1 » Kasein	k. H.
0,02 » »	+ 0,1 » »	0
0,05 » »	+ 0,1 » Edestin	k. H.
0,02 » »	+ 0,1 » »	0

Wie man sieht, war bei keinem der untersuchten Eiweifskörper auch nur die geringste Hemmung festzustellen, auch nicht beim Eieralbumin, bei dem v. Liebermann, der allerdings 1 ccm einer konzentrierten Lösung verwendete, eine deutliche Hemmungswirkung gefunden hatte. Ziehen wir noch die oben mitgeteilten negativen Resultate mit Gelatine heran, so kommen wir zu dem Schlufs, dafs auch in der chemischen Natur als Eiweifskörper eine Erklärung für die Hemmungswirkung des Serumalbumins und -globulins nicht zu finden ist. Zeigen zwar Kasein, Edestin und Gelatine merkliche Abweichungen von den Bluteiweifskörpern hinsichtlich der quantitativen Beteiligung der verschiedenen Aminosäuren an ihrem Aufbau, so scheinen doch Serum- und Eieralbumin sich sowohl chemisch wie physikalisch sehr nahe zu stehen. Der einzige greifbare erhebliche Unterschied liegt in dem hohen Glukosamingehalt des Eieralbumins, von dem noch nicht einmal feststeht, inwieweit er nicht etwa durch Verunreinigungen bedingt ist. Aber man mufs daran denken, dafs geringe Differenzen in der intramolekularen Struktur von Bedeutung sein können. Haben doch die Untersuchungen von Hausmann[1]), Abderhalden und Le Count[2]) gezeigt, dafs die Hemmungswirkung des Cholesterins gegenüber der Saponinhämolyse durch Besetzung einer Hydroxylgruppe oder durch Aufhebung einer doppelten Bindung stark beeinträchtigt oder ganz aufgehoben wird. Ob aber nicht zwischen uns fast identisch erscheinenden Eiweifskörpern, wie dem Serum- und Eieralbumin,

1) Hausmann, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 6, 567, 1906.

2) Abderhalden und Le Count, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap., II, Bd. 2, 199, 1905.

die bei der Aufspaltung dieselben Bausteine in nahezu gleicher Menge liefern, doch vielleicht Strukturverschiedenheiten etwa derart vorhanden sind, dafs bei dem einen Körper neben amidartigen auch anhydrid- oder esterartige Bindungen vorhanden sind, vermögen wir nach dem heutigen Stande der Eiweifschemie nicht zu sagen. Aussichtsvoll wäre es hier, die Spaltungsprodukte des Serumalbumins einzeln zu untersuchen und so die Hemmungswirkung auf bestimmte Bedingungen der Zusammensetzung und der Struktur zu beschränken. So lange wir aber die ersten Spaltungsprodukte rein chemisch nicht näher zu charakterisieren vermögen und mit Gemischen unbekannter Substanzen arbeiten müssen, können wir auch von solchen Versuchen nicht viel erwarten.

Wie man sich die Hemmung der Hämolyse durch die Bluteiweifskörper vorzustellen hat, mufs demnach einstweilen unaufgeklärt bleiben. Dagegen läfst sich, wie mir scheint, die Frage entscheiden, ob man sich ihre Wirkung so zu denken hat, dafs sie sei es chemische Verbindungen sei es physikalische Komplexe mit dem hämolytischen Agens bilden, die nicht mehr giftig wirken, oder ob sie sich mit den Lipoiden der Blutkörperchen vereinen und sie der Einwirkung der Seife und der Gallensalze unzugänglich machen. Die oben nachgewiesene Konstanz in dem Verhältnis zwischen der eben hemmend wirkenden Eiweifsmenge und der Giftmenge auch bei wechselnden Blutquantitäten spricht für die Annahme einer Beziehung zwischen dem hämolytischen Agens und dem Eiweifskörper.

Von der Vermutung ausgehend, dafs die Hämolyse durch Seife, Gallensalze und Saponin auf das Lösungsvermögen zurückzuführen sei, das diese Körper für Lipoide besitzen, versuchte ich festzustellen, ob sich eine Einwirkung der Bluteiweifskörper auf diese Fähigkeit in unzweideutiger Weise nachweisen lasse. Setzt man zu einer klaren Saponin- oder Gallensalzlösung — Seifenlösungen opalisieren meist an und für sich — tropfenweise eine milchig getrübte Lecithin-Wasseremulsion, so sieht man, dafs eine bestimmte Zahl von Tropfen klar gelöst wird, ehe eine bleibende Trübung eintritt. Ich fügte nun zu einer Lösung von

taurocholsaurem Natron Serumalbumin und -globulin in wechselnden Mengen und prüfte, ob in diesen Lösungen schon bei geringerem Lezithinzusatz eine Trübung auftritt als in reiner Gallensalzlösung. Es war dies nicht der Fall; die mit Serumeiweiſs versetzte Gallenlösung nahm ebensoviel Lezithin auf wie die reine Gallensalzflüssigkeit. Das Lösungsvermögen für Lipoide wird demnach durch den Eiweiſszusatz nicht herabgesetzt und es darf also hierin nicht die Erklärung für die Hemmungswirkung des Serumeiweiſses auf die Hämolyse gesucht werden. Dieses Ergebnis läſst es nun aber auch fraglich erscheinen, ob die Hämolyse durch Seife und Gallensalze überhaupt als einfacher Lösungsvorgang der Lipoide zu deuten ist, und ob nicht vielleicht auch die Eiweiſskörper der Blutkörperchen hierbei beteiligt sind.

Ein Vergleich mit der Saponinhämolyse, bei der die Verhältnisse offenbar anders liegen, dürfte hier zur Aufklärung beitragen. Ransom hatte gefunden, daſs das Cholesterin schützend gegen das Saponin wirkt und hatte das gleiche Verhalten bei den zum groſsen Teil aus Cholesterin bestehenden Blutkörperchenextrakten beobachtet. Er zog daraus den Schluſs, daſs der Angriffspunkt des Saponins auch in den Blutkörperchen das Cholesterin sei, und daſs durch die Bindung des Saponins an das Cholesterin die Integrität des Erythrozytenstromas geschädigt werde, ohne aber diese schädliche Wirkung irgendwie zu beweisen oder zu erklären. Er sprach seine Auffassung des Vorganges mit den bekannten Worten aus, daſs die gleiche Substanz im Serum giftableitend, in den Blutkörperchen aber giftzuleitend wirke, eine Anschauung, die bei der Deutung der Antikörper als freier Zellrezeptoren vielfach zur Stütze herangezogen wurde.

Ich will hier nur kurz bemerken, daſs mir die Schluſsfolgerung Ransoms durchaus nicht zwingend erscheint, weil eben ein Beweis dafür, daſs die Bindung des Saponins an das Cholesterin das Blutkörperchen irgendwie schädigt, ja auch nur, daſs das Saponin vorwiegend zum Cholesterin geht, nicht erbracht ist. Ich möchte vielmehr die Ursache des zerstörenden Einflusses des Saponins auf die Erythrozyten in

seinem Lösungsvermögen für Lezithin erblicken und dem Cholesterin auch innerhalb der Blutkörperchen eine Schutzwirkung zuschreiben. Hierfür sprechen durchaus die im Hofmeisterschen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen Pascuccis[1]) mit künstlichen Blutkörperchenmembranen. Es zeigte sich bei ihnen, dafs die Widerstandsfähigkeit der Lezithinmembran mit steigendem Cholesteringehalt zunimmt, und dafs also auch innerhalb der Lipoidschicht dem Cholesterin eine schützende Wirkung zukommt. Eine vergleichende Untersuchung der verschiedenen, in ihrem Cholesteringehalt ja zum Teil erheblich voneinander differierenden Blutarten bezüglich ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Saponinwirkung könnte hier vielleicht weitere Aufschlüsse liefern.

Pascucci fand ferner, dafs das Lösungsvermögen des Saponins für Lezithin durch Cholesterinzusatz herabgesetzt wird. Hemmung der Lipoidlösung und der Hämolyse durch Cholesterin gehen hier also parallel. Wenn wir bei der Seife und den Gallensalzen eine Beeinträchtigung des Lezithin-Lösungsvermögens durch die die Hämolyse hemmenden Eiweifskörper nicht eintreten sahen, so scheint dies dafür zu sprechen, dafs hier ein anderer Mechanismus als bei der Saponinhämolyse vorliegt. Es wäre daran zu denken, dafs die Auflösung der Blutkörperchen durch Seife und Galle weniger auf einer Lösung der Lipoide als auf einer Schädigung der Eiweifsstoffe des Stromas beruht. Und falls nähere, bisher nicht bekannte, Beziehungen zwischen den Serumeiweifskörpern und dem Eiweifs der Blutkörperchenmembranen, unabhängig von der Tierspezies bestehen sollten, so würde hierdurch auch die spezifische Hemmungswirkung der Serumstoffe verständlich werden. Denn dann läge in der Tat ein Analogon des von Ransom zu Unrecht vermuteten Vorganges vor: die Erythrozyteneiweifskörper würden dadurch geschützt, dafs nahe verwandte Eiweifsstoffe die gegenüber gemeinsamen Gruppen vorhandene chemische oder Zustandsaffinität der giftigen Substanzen absättigen.

---

1) Pascucci, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 552.

Zusammenfassung:

1. Serumalbumin und -globulin hemmen die Seifen- und Gallensäurenhämolyse, nicht die Saponinhämolyse.
2. Cholesterin hemmt die Saponin-, nicht die Seifen- und Gallensäurenhämolyse.
3. Die Hemmungswirkung des Serumalbumins und -globulins ist nicht durch ihre kolloidale Natur bedingt: Dextrin, Gummi und Gelatine wirken nicht hemmend.
4. Die Hemmungswirkung ist keine Gruppeneigentümlichkeit der Eiweiſskörper. Eieralbumin, Kasein, Edestin und Gelatine zeigen sie nicht.
5. Die Hemmung der Hämolyse durch Serumalbumin und -globulin beruht nicht auf einer Verminderung des Lipoidlösungsvermögens der Seife und Gallensäure.
6. Die Kolloide Dextrin, Gummi und Gelatine wirken in höherer Konzentration agglutinierend und machen die Blutkörperchen hierbei hämolytischen Wirkungen leichter zugänglich.

Über die Präexistenz des Alexins im zirkulierenden Blut.

Gleichzeitig ein Beitrag zur Frage der Blutgerinnung und des Alexingehaltes des Humor aqueus.

Von

Dr. **Rudolf Schneider.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München. Vorstand: Obermedizinalrat Prof. Dr. M. Gruber.)

Solange, dank der grundlegenden Arbeiten von v. Fodor[1])-Flügge[2]), Nuttall[3]) und besonders von Buchner[4]), die bakterizide Wirkung des Blutserums bekannt ist, währt der Streit darüber, ob diese keimtötende Kraft schon dem zirkulierenden Blut innewohnt und ob sie für die natürliche und künstliche Immunität des Organismus von Bedeutung ist.

Während nach der wohl allgemein in Deutschland angenommenen Auffassung Buchners das Alexin ein auch im strömenden Blute gelöster Schutzstoff ist, vertritt man in Frankreich unter dem grofsen Einflufs der Phagozytenlehre Metschnikoffs die Anschauung, dafs das Alexin unter normalen Bedingungen nie frei im Blut und in den Körpersäften zirkuliert, sondern in den Leukozyten eingeschlossen ist und nur bei ihrem Tode frei wird. Hat auch Metschnikoff mit dem Zugeständnis, dafs unter gewissen Bedingungen dem Körper von seiten der Leukozyten als Alexinspender ein schützendes Moment erwächst, seine ursprünglich rein zelluläre Anschauung verlassen und sich etwas

der humoralen Buchners genähert, so besteht doch noch ein schroffer Gegensatz zwischen ihm und Buchner, indem er die Präexistenz des Alexins im strömenden Blute leugnet. Für Buchner war das Alexin das im Blute zirkulierende grofse bakterielle Schutzmittel des Körpers und das Sekretionsprodukt der lebenden Leukozyten. Dabei war er nicht so einseitig, »eine Alexintheorie aufzustellen in dem Sinne, als ob die Alexine, jene gelösten bakterienfeindlichen Substanzen der Körpersäfte, allein als ausreichende Ursache der natürlichen Widerstandsfähigkeit gelten sollten«, eine Anschauung gegen die er sich ausdrücklich verwahrt hat. Vielmehr erkannte auch er den Leukozyten wegen ihrer Frefstätigkeit und der ihnen von ihm zugeschriebenen Befähigung zur Sekretion gelöster bakterizider Stoffe eine wichtige Rolle bei den natürlichen Abwehrvorkehrungen zu.

Die gleiche Bewertung als schützende Faktoren des Körpers erfahren auch heute noch Alexin und Leukozyten von seiten der Anhänger der Alexintheorie. Dies hat erst neuerdings Gruber[5]), ihr eifrigster Verfechter, im Anschlufs an seine gemeinsam mit Futaki über Seroaktivität und Phagozytose angestellten Versuche zum Ausdruck gebracht. Nach ihm geht die primäre Schutzwirkung von den gelösten thermolabilen Stoffen des Blutes aus, während die Phagozytose eine sekundäre Schutzwirkung des Körpers gegen Infektion ist.

Der von ihnen vertretenen Lehre zur allgemeinen Anerkennung zu verhelfen, waren die Begründer und Anhänger der Phagozyten- und Alexintheorie mit Ausdauer und viel Scharfsinn bemüht. Starken Zweifel an der Richtigkeit der Buchnerschen Auffassung mufste allerdings von vornherein die Tatsache erregen, dafs zwischen Bakterizidie des Serums in vitro und natürlicher Immunität nicht immer Übereinstimmung besteht. Bereits Lubarsch[6]) hatte auf den Unterschied hingewiesen, der zwischen der hohen bakterienvernichtenden Fähigkeit des Kaninchenblutes in vitro und der enormen Empfänglichkeit des Tieres für Milzbrand besteht, während er umgekehrt bei dem für Anthrax fast unempfänglichen Hund nur geringe Abtötung in vitro

beobachtete. Nach vielen vergeblichen Bemühungen anderer Forscher, z. B. Buchner[7]), Bail und Petterson[8]), ist es jetzt endlich Gruber und Futaki[9]) gelungen, für den Widerspruch, der zwischen dem Verhalten der Sera in vitro und der Empfänglichkeit der betreffenden Tiere dem Milzbrand gegenüber besteht, absolut sichere Erklärungen zu geben. Ihren interessanten Untersuchungen verdanken wir die Kenntnis von der Eigenart und Kompliziertheit der Schutzmittel, mit deren Hilfe der Organismus der verschiedenen Tierspezies sich der Milzbrandinfektion zu erwehren versucht. Für uns aber besonders wichtig ist ihre Entdeckung, dafs die von den Leukozyten und Blutplättchen stammenden milzbrandfeindlichen Stoffe, die sog. Anthrakozidine, nichts mit dem Alexin des Blutes zu tun haben.

Auf drei Wegen ist in der Hauptsache versucht worden, die Frage der Präexistenz des Alexins im zirkulierenden Blute zur Entscheidung zu bringen. Auf dem einen wurden die Veränderungen, die Mikroben und andere fremdartige Zellen im Blut und in den Körpersäften der Tiere erleiden, verfolgt; auf einem zweiten galt es, eine Abnahme der Fähigkeiten des intra- und extravasalen Blutes bei Tieren nachzuweisen, bei denen vorher durch Infektion oder auf andere Weise das im strömenden Blute befindliche Alexin in Anspruch genommen war, und drittens ging man so vor, dafs man extravasal Blutflüssigkeiten zu gewinnen suchte, die in ihrer chemischen und physikalischen Zusammensetzung bei gleichzeitiger weitgehendster Schonung der zellulären Elemente dem zirkulierenden Blut möglichst ähnlich waren und dafs man dann ihre Wirksamkeit in vitro mit der der entsprechenden Sera verglich. Alle drei Wege wurden von den Autoren mit allerdings oft sehr widersprechenden Resultaten beschritten.

Wenden wir uns den Arbeiten zu, bei denen der erste Versuchsweg eingeschlagen wurde. Grofs ist allerdings nicht die Zahl der Untersuchungen, in denen das Schicksal der Keime in dem strömenden Blut des Tieres selbst studiert wurde. Denn die Erfüllung der schon von Buchner aufgestellten Forderung, es müfsten zur fehlerfreien Beurteilung der bakterientötenden Wirkung des zirkulierenden Blutes die Versuche am lebenden

Tier ausgeführt werden, stöfst auf grofse Schwierigkeiten. Der einfache Nachweis des Verschwindens der in die Blutbahn injizierten Bakterien mit Hilfe der von Buchner für den bakteriziden Versuch eingeführten Plattenmethode genügt nicht, um uns über das Wie und Wo der Keimvernichtung ein Urteil bilden zu können. Es ist vielmehr die Bakteriolyse, als deren morphologischen Ausdruck das Pfeiffersche Phänomen der Granulabildung allgemein anerkannt wird, im strömenden Blute zu verfolgen. Geschieht dies im hängenden Tropfen oder am Bluttrockenpräparat, so gelangen infolge der starken Verteilung der eingebrachten Mikroben, ihres Steckenbleibens in den Kapillaren und ihres hierdurch bewirkten raschen Verschwindens aus der freien Blutbahn immer nur ganz vereinzelte Exemplare zur Beobachtung. Oft sind viele solcher Präparate zu untersuchen, ehe nur einige freie Keime gefunden werden. Aus ihrem Verhalten ist kaum ein sicherer Schlufs zu ziehen.

Löwit[10]), der den angegebenen Weg einschlug und bei seiner ersten Arbeit über diesen Gegenstand Typhusbazillen und Choleravibrionen intravasal injizierte, hat aufserdem die Schwierigkeiten betont, die bei Anwendung der üblichen Färbungsverfahren die Unterscheidung dieser in Granulabildung begriffenen Mikroben im Blute bereitet.

In einer mühevollen zweiten Arbeit studierte deshalb derselbe Autor die Frage der intravasalen Bakteriolyse an dem grambeständigen Milzbrandbazillus, bei dem eine tinktorelle Unterscheidung von anderen morphotischen und durch die Methode entfärbten Elementen des Blutes erleichtert ist. Das Ergebnis dieser Untersuchungen Löwits, soweit es Bezug auf vorliegendes Thema hat, ist der Nachweis eines nur niederen Standes intravasaler Bakteriolyse, dessen Konstatierung und Deutung durch die Arbeiten von Gruber und Futaki allerdings inzwischen gegenstandslos geworden ist.

Levaditi[11]) injizierte normalen und immunisierten Tieren in die Ingularvene Choleravibrionen und bestritt mit aller Entschiedenheit jedes Vorkommen des Pfeifferschen Phänomens im Blute und daher auch die Anwesenheit von freiem Alexin

im zirkulierenden Plasma. Da aber Levaditi die Granulabildung nur an gefärbten Bluttrockenpräparaten untersucht hat, so sind seine Befunde aus den oben angeführten Gründen nicht absolut beweisend. Er selbst ergänzte sie auch, indem er den morphologischen Ablauf der Cholerainfektion im Unterhautzellengewebe und in der Peritonealhöhle verfolgte, Methoden, die zum Studium der mikrobiziden Eigenschaften der Körpersäfte seit der Entdeckung des Pfeifferschen Phänomens vielfache Anwendung gefunden haben. Gerade mit ihrer Hilfe wurden die Ergebnisse gewonnen, auf die sich Metschnikoff[12]) bei Begründung seiner Theorie stützte.

Bei der eingehenden Behandlung, welche die Phagozytentheorie durch ihren genialen Schöpfer in einer eigenen Monographie und in einer für das Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann abgefafsten Zusammenstellung erfahren hat, erlasse ich es mir, auf die einzelnen hier einschlagenden Arbeiten Metschnikoffs und seiner Schüler Bordet[13]), Issaef[14]), Pierallini[15]), Mesnil[16]), Salimbeni[17]), Cantacuzène[18]) einzugehen. Sie kommen zu dem übereinstimmenden Resultat, dafs in der Peritonealhöhle, im subkutanen Gewebe, in der vorderen Augenkammer, sowie in der Ödemflüssigkeit gestauter Körperteile (Kaninchenohr, Meerschweinpfote) eine extrazelluläre Granulabildung der Choleravibrionen nur insoweit auftritt, als durch Leukozytenzerstörung, der sog. Phagolyse, bakterizide Stoffe aus vorhandenen oder eingewanderten Leukozyten frei werden. Verhütet man in der Bauchhöhle des Meerschweines, z. B. durch vorher stattgehabte Bouilloninjektion, die Phagolyse, so werden die später injizierten Bakterien bei völligem Fehlen des Pfeifferschen Phänomens ausschliefslich von den Phagozyten aufgenommen und verdaut; wie überhaupt, ihres Erachtens nach, die intrazelluläre Bakterienvernichtung die wichtigste und ausschlaggebende ist.

Zu entgegengesetzten Resultaten kamen Gruber und Durham[19]), sowie Pfeiffer[20]) und seine Mitarbeiter, Kolle[21]), Radziewski[22]), Wolff[23]), Abel[24]), Ascher[25]) und Moxter[26]). Nach Gruber und Durham ist das Verschwinden der Leuko-

zyten aus der Peritonealflüssigkeit nicht die Folge einer durch die Bakterieninjektion verursachten Leukozytenzerstörung, sondern sie ist durch die Ablagerung der zusammengeballten Leukozyten auf den Peritonealflächen bedingt. Des weiteren sind die in der Peritonealhöhle befindlichen Leukozyten keine polynukleären »Mikrophagen«, die nach Metschnikoff das bakteriolytische Alexin liefern sollen, sondern hauptsächlich mononukleäre Zellen, »Makrophagen«; auch sei das konstante Mifsverhältnis auffällig, das zwischen der grofsen Alexinmenge und der geringen Leukozytenzahl besteht. Der Prozefs der Bakterienauflösung in der Bauchhöhle eines aktiv immunisierten Tieres oder eines solchen, dem zusammen mit den Bakterien inaktives Immunserum intraperitoneal injiziert worden ist, weist daher, nach Ansicht von Gruber und Durham auf die Anwesenheit freien Alexins in den Körpersäften hin. Pfeiffer und seine Mitarbeiter konnten, als sie die Angaben Metschnikoffs nachprüften, trotz Beobachtung aller von Metschnikoff angewendeten Kautelen, dessen Resultate nicht bestätigen. Im besonderen sahen Pfeiffer, Ascher und Abel bei den mit Bouillon präparierten Tieren extrazelluläre Auflösung keineswegs ausbleiben, wie auch Gruber beobachtet hatte. Eingehend hat Radziewski die Veränderungen, die verschiedene Bakterienarten in der Bauchhöhle erleiden, an gefärbten Präparaten studiert und neben der Auflösung im freien Peritoneum auch Phagozytose konstatiert. Im Pfeifferschen Institut hat ferner Wolff in gründlicher Weise Untersuchungen über die morphologischen Verhältnisse bei der Infektion an Exsudaten angestellt, auf Grund deren er energisch gegen die Behauptung Metschnikoffs, es fehle das Alexin in der Peritonealflüssigkeit, Stellung nimmt.

Bei den weitgehenden Analogien, die zwischen der bakteriolytischen und hämolytischen Wirkung von Normal- und Immunseris bestehen, lag der Versuch nahe, durch Verfolgung des hämolytischen Prozesses im Tierkörper Aufschlufs über die Anwesenheit freien Alexins im Blute zu erhalten. Man durfte hoffen, an den im Vergleich zu den Bakterien grofsen Erythrozyten etwaige durch Alexin herbeigeführte Veränderungen eher

wahrnehmen zu können. Auch durfte man erwarten, dafs die mehr passiven roten Blutkörperchen, deren Schädigung in dem Austritt des Hämoglobins ihren deutlichen Ausdruck findet, ein empfindlicheres Testobjekt dem Alexin gegenüber abgeben würden, als die mit Schutz- und Angriffsmitteln versehenen Mikroorganismen. So brachte Rehns[27]) präparierte Kaninchenblutkörperchen in die Blutbahn normaler Kaninchen und bezog ihre Auflösung daselbst auf die Anwesenheit freien Alexins im strömenden Blute. Von der — wie später gezeigt wird — unrichtigen Voraussetzung ausgehend, dafs in der Kälte zentrifugiertes Plasma alexinfrei sei, injizierte Ascoli[28]) eisgekühltes Plasma von Hunden, die mit Kaninchenerythrozyten vorbehandelt waren, intravenös normalen Kaninchen und folgerte aus dem Umstande, dafs deren rote Blutkörperchen aufgelöst wurden, die intravasale Existenz freien Alexins.

Im Gegensatz zu diesen beiden Forschern fand Sawtschenko intravitale Hämolyse und Hämoglobinurie bei Meerschweinen nur dann, wenn aktives Serum von Kaninchen, die mit Meerschweinblutkörperchen vorbehandelt waren, dem Tiere in die Zirkulation eingeführt wurde, während in den Fällen, in denen das Antiserum inaktiv beigebracht wurde, ausschliefslich Phagozytose Platz griff. Entsprechend fielen die in die Bauchhöhle des Meerschweinchens eingespritzten Erythrozyten nur der Phygozytose zum Opfer, die wesentlich beschleunigt und intensiver sich gestaltete, wenn die Blutkörperchen präpariert waren oder zugleich mit Antiserum appliziert wurden. Die Befunde Sawtschenkos[29]) bilden eine Ergänzung zu Versuchen seines Lehrers Metschnikoff[30]), der schon früher in der Bauchhöhle normaler Meerschweine das Vorhandensein von Alexin glaubte ausschliefsen zu können auf Grund von Versuchen, die er über die Resorption von Zellen im besonderen vom Ganserythrozyten ausgeführt hatte. Zu Resultaten, die von denen Metschnikoffs und Sawtschenkos ganz abweichen und die er bei intraperitonealer Einverleibung von roten Taubenblutkörperchen erhalten hat, kommt Wolff in seiner oben zitierten Arbeit.

An dieser Stelle ist auch das Experiment zu erwähnen, das Gruber[31]) in geistvoller Weise ersann, um einen strikten Beweis für das Vorhandensein von freiem Alexin im zirkulierenden Blute zu liefern. Gruber stellte sich durch Vorbehandlung eines Kaninchens mit Meerschweinblutkörperchen ein spezifisches Meerschweinerythrozyten lösendes Serum dar; dieses inaktivierte er durch Erhitzen auf 55° und injizierte eine gewisse Menge davon in die Bauchhöhle von normalen Meerschweinen, von wo es allmählich durch Resorption in die Blutbahn gelangen und hier mit den Erythrozyten zusammentreffen mufste. Diese wurden präpariert und mufsten, wenn das Blutplasma Alexin enthielt, in Lösung gehen. Und in der Tat erfolgte einige Zeit nach der Injektion des Antiserums intravitale Hämolyse, die sich in einer rapiden Abnahme der roten Blutkörperchen mit Hämoglobinurie kund gab.

In dem Bestreben, auch diese Beobachtung Grubers in Einklang mit der Lehre Metschnikoffs zu bringen, erhob Levaditi[32]) eine Reihe Einwände, denen gegenüber Gruber[34]) auf Grund weiterer ausgedehnter Versuche, die er zum Teil unter Mitwirkung von Ružičzka[35]) ausführte und teilweise durch Bellei[35]) vornehmen liefs, seine Auffassung von der Anwesenheit gelösten Alexins im Blutplasma uneingeschränkt aufrecht erhalten konnte.

Gehen wir jetzt zu den Versuchen über, bei denen durch verschiedene Mafsnahmen eine Erschöpfung des Alexins im Tierkörper angestrebt wurde und bei denen aus der hierdurch erzielten Beeinflussung der Resistenz sowie der bakteriziden und hämolytischen Wirksamkeit des Serums die An- und Abwesenheit freien Alexins im lebenden Blute bewiesen werden sollte. Als Erster experimentierte in dieser Richtung Nissen[36]). Er zeigte, dafs die Injektion gröfserer Mengen von Bakterien eine Abschwächung der bakteriziden Wirkung zur Folge hat. Dabei beobachtete er, dafs der Einflufs der injizierten Keime gewissermafsen ein spezifischer ist, insoferne durch Injektion einer Aufschwemmung des Coccus aquatilis hauptsächlich die bakterizide Wirkung auf diesen, weniger die auf Cholera und Typhusbazillen

herabgesetzt wurde. Auch konnte er schon wahrscheinlich machen, dafs die Verminderung der bakterientötenden Kraft des Blutes bei den Injektionsversuchen nicht durch die mit den Bakterien ins Blut eingeführten chemischen Substanzen, sondern durch eine Erschöpfung des Blutes infolge der Vernichtung zahlreicher Keime zu erklären ist, eine Ansicht, die auch Buchner[37]) vertrat und durch seinen Schüler L. Schneider[38]) weiter begründen liefs. Im Gegensatz zu Nissen fand Bastin[39]), dafs ein durch Bakterienemulsion unwirksam gewordenes Blut auch andersartigen als den injizierten Keimen gegenüber an Wirksamkeit verloren habe. Stets wurde nach Injektion gröfserer Bakterienmengen die Bakterizidie des Serums herabgesetzt, gleichgültig, ob lebende oder tote Kulturen verwendet wurden. Je mehr Bakterien eingespritzt wurden, um so stärker war die Abnahme der bakteriziden Kraft, welche nach 6 Stunden zum grofsen Teil wieder hergestellt war. Die Untersuchungen von Denys und Kaisin[40]) bestätigten die Ergebnisse von Bastin; sie fanden, dafs auch durch Zusatz toter Bakterien zum extravaskularen Blute die Bakterizidie leide. Von Interesse sind ferner die Arbeiten von v. Szekely und Szana[41]), welche die Veränderungen im bakteriziden Vermögen nach vorausgegangener Injektion verschiedener Bakterienarten zum Gegenstand auführlicher Untersuchungen machten und konstatierten, dafs, solange sich reichlich Choleravibrionen im Blute befanden, das Serum in vitro nicht bakterizid war, dafs es aber nach Schwinden der Vibrionen aus dem Kreislaufe wieder in erhöhtem Grade bakterizid wurde.

Es seien hier auch die Namen von Lubarsch[42]), Rosatzin[43]), Bonaduce[44]), Denys und Havet[45]), Ostrianine[46]), Conradi[47]), Wilde[48]), Spangaro und Mioni[49]) aufgeführt, Autoren, die mit Milzbrandbazillen operierten, deren Arbeiten aber jetzt, nachdem die Sonderstellung der milzbrandfeindlichen Stoffe des Blutserums durch Gruber und Futaki erforscht ist, für die Lösung der vorliegenden Frage nicht mehr herangezogen werden können. Immerhin waren sie dadurch von Nutzen, dafs sie bei der Eigenart der Verhältnisse der Milzbrandinfektion und

-immunität zu Kontroversen mit den anderen Forschern führten und zu weiteren Arbeiten auf diesem Gebiete Anlafs gaben, unter denen die von Bail[50]), Schütze und Scheller[51]) und v. Wilde[52]) als besonders wertvoll zu bezeichnen sind. Die trefflichen Untersuchungen Bails über Einwirkung abgetöteter Bakterien auf die Serumalexine sind für unsere Betrachtung nur insoferne von Bedeutung, als sie die Wichtigkeit der quantitativen Verhältnisse bei diesen Versuchen erkennen liefsen.

Auch Wilde beschäftigt sich in seiner interessanten Arbeit zunächst mit der Beeinflussung des Serums. Durch Kontakt mit den verschiedensten Elementen, nämlich lebenden und besonders abgetöteten Bakterien, Hefezellen, roten Blutkörperchen und verriebenen Organzellen, endlich durch unlösliche Eiweifsstoffe, besonders Aleuronat, konnte er die bakterizide und hämolytische Wirkung der Alexine von Rinder-, Hunde- und Kaninchenserum völlig paralysieren; die Beseitigung der aktiven Eigenschaften der Sera denkt Wilde sich durch Bindung des Alexins an die Reaktionskörper erfolgt, wobei die Menge und die Zeit, in welcher diese Stoffe mit dem Serum in Kontakt kommen und die Temperatur, bei welcher die Gemische gehalten werden, von mafsgebendem Einflusse sind. Hervorzuheben ist der Nachweis Wildes, dafs es gelingt, durch Zusatz einer genügend grofsen Menge von absorbierender Substanz, z. B. von abgetöteten Choleravibrionen, zum Normalserum alle aktiven Eigenschaften der Sera zum Verschwinden zu bringen. Denselben Nachweis, der zur Stütze der von Buchner und Gruber im Gegensatz zu Ehrlich und seinen Schülern vertretenen Ansicht von der Einheit des Alexins zu verwerten ist, hatten vorher Bordet und Gengou geliefert. Besonders wichtig für uns sind Wildes zahlreiche Versuche, in denen es ihm gelang, durch gleichzeitige Injektion alexinbindenden Materials (abgetötete Bakterien, Organzellen, Aleuronat) an sich nicht tötliche Dosen von Cholera- oder Typhusbazillen für Meerschweine zu tötlichen zu machen. Dafs der Grund hierfür in der Absorption des in dem Peritonealraum frei befindlichen Alexins zu suchen ist, beweist er durch Kontrollversuche mit Aleuronat, welches vorher

durch Sättigung mit fremdem Alexin der Fähigkeit weiteres Alexin zu binden, beraubt war. Die Injektion derartig präparierten Aleuronates übt im Gegenteil einen günstigen Einflufs auf die Resistenz des Peritoneums gegen die einverleibten Bakterien aus, ein Beweis also für die Wichtigkeit des Alexins im Kampfe gegen derartige Infektionen des Peritoneums. Nicht unerwähnt möchten wir schliefslich die Abfertigung lassen, die Wilde einem Einwande Levaditis zu teil werden läfst. Levaditi[53]) hatte mit Rücksicht auf Versuche von Dungerns[54]) in der Absorptionsfähigkeit von Organzellenemulsionen einen Beweis gegen die Möglichkeit der Existenz von freiem Alexin im zirkulierenden Blute erblickt, indem er es für unmöglich hielt, dafs in einem alexingesättigten Milieu ungesättigte Elemente existieren könnten. Demgegenüber weist Wilde darauf hin, dafs bei v. Dungerns und seinen Versuchen es sich um Zellen handelt, die aus ihren natürlichen Lebensbedingungen herausgerissen und geschädigt sind. Dafs solche Zellen sich auch dem Alexin gegenüber anders verhalten als die unter physiologischen Verhältnissen befindlichen Zellen der lebenden Organe, sei wohl zu begreifen.

Schützes und Schellers interessante Versuche ergeben mit Sicherheit, dafs bei allen Kaninchen, deren normales Serum vorher eine starke Lösungsfähigkeit gegenüber Ziegenblut besessen hatte, nach intravenöser Injektion von genügenden Mengen Ziegenerythrozyten die diese lösenden Substanzen bei Prüfung im Reagensglase verbraucht waren. Die Erschöpfung der hämolytischen Kraft war in der ersten Viertelstunde nach der Einverleibung des Ziegenblutes vollständig, und ihre Regeneration war im Durchschnitt schon innerhalb 2—4 Stunden wieder eingetreten, während bei Kaninchen, die durch vorausgegangene Infektion geschwächt waren, eine Verzögerung oder Aufhebung der Regeneration der verbrauchten Alexine festzustellen war. Im Einklange mit den Resultaten von Schütze und Scheller steht die Herabsetzung der Alexinregeneration, welche Trommsdorff[55]) bei abgekühlten und ermüdeten Meerschweinen nachgewiesen hat. Dieser Forscher benutzte zur intravenösen Injek-

tion den Brei gewaschener Rinderblutkörperchen, von dem er durchschnittlich 2—3 ccm zur völligen Absorption des Alexins für Meerschweine im Gewicht von 300—400 g gebrauchte. Eine Abnahme des Alexingehaltes war etwa 30 Minuten nach der Einspritzung zu beobachten, ihr Maximum lag dann zwischen der 3. und 6. Stunde, und nach 9 Stunden war meist der ursprüngliche Alexingehalt wieder vorhanden. Bei Tieren, die durch Erkältung und Ermüdung geschwächt waren, fand sich die Regeneration stark herabgesetzt, so dafs 24 Stunden nach stattgehabter Absorption der Alexingehalt bedeutend unter der Norm, manchmal nur minimal war.

Der Absorbierbarkeit des Alexins bedienten sich auch Simnitzki[56]) und Sachs[57]). Während ersterer im Anschlufs an die intravenöse Injektion von Rinderblutkörperchen beim Kaninchen eine starke Leukopenie aber keine Änderung des Alexingehaltes fand, konstatierte Sachs bei der gleichen Versuchsanordnung ein mit dem Verschwinden der Rindererythrozyten einhergehendes Sinken der Alexinmenge, dem ein reparatorischer Anstieg über die Normalmenge folgte. Beide Autoren machen trotz der divergierenden Resultate ihrer Versuche die gleiche Schlufsfolgerung auf die Anwesenheit freien Alexins im zirkulierenden Blutplasma. Und zwar erblickt Simnitzki in dem Umstand, dafs trotz der hochgradigen Leukopenie, die er auf Leukozytenzerfall zurückführt, der Alexingehalt der gleiche blieb, einen Beweis für die Richtigkeit seiner Anschauung; dies gewifs ohne Berechtigung; denn wie Löwit bei Kritik dieser Versuche schon bemerkte, mufs die Leukopenie nicht durch Leukolyse im Blute, sondern sie kann auch durch Verdrängung der Leukozyten in die inneren Organe bedingt sein. Zudem steht die von Simnitzki angegebene Unveränderlichkeit der Alexinmenge nach Rinderblutkörperchen-Injektionen in Widerspruch mit den Ergebnissen der anderen gleichartigen Untersuchungen.

In geistvoller Weise hat Wassermann[58]) die Lösung der vorliegenden Frage versucht und zugleich einen Beweis für die ausschlaggebende Bedeutung bei der Bekämpfung der Infektionserreger im Organismus gebracht. Er behandelte Kaninchen mit

Meerschweinserum und verschaffte sich so ein Antimeerschwein-Alexinserum, mit welchem er die bakterizide und hämolytische Wirkung vom aktiven Meerschweinserum neutralisieren konnte. Injizierte er von diesem Antiserum eine gewisse Menge einem Meerschwein, einem andern die gleiche Menge normalen Kaninchenserums zusammen mit einer nicht tötlichen Dosis Typhusbazillen, so starb nur das Tier, welches das Antiserum erhalten hatte, während das Kontrolltier die Typhusinfektion überstand. Wassermann erblickte den Grund für das verschiedene Verhalten der Tiere in der durch das Antiserum beim ersten Tier bedingten Paralysierung des Alexins, mit dessen Hilfe das zweite Tier den Sieg über die Krankheitserreger davontrug. Die Beweiskraft dieses Versuches wurde allerdings durch Besredka[59]) nicht unerheblich eingeschränkt. Letzterer führte den Nachweis, dafs ein durch Vorbehandlung mit fremdem Serum erzeugtes Antiserum aufser dem Antialexin noch andere Antikörper enthält. Unter diesen ist besonders die Hemmung der Phagozytose durch Verklumpung und Lähmung der Leukozyten von Bedeutung. Ist es auch wahrscheinlich, dafs die Wirkung des Antiserums in erster Linie auf der Neutralisation des Alexins beruht, so kann man doch den Einwänden Besredkas, der in der Behinderung der Phygozytose den wesentlichen Effekt des Antiserums sieht, ihre Berechtigung nicht absprechen.

Fügen wir nun die dritte Gruppe der Arbeiten an, die den Nachweis der Präexistenz des Alexins im strömenden Blute dadurch zu erbringen trachteten, dafs sie sich die Aufgabe stellten, extravaskuläres Blut in einem dem zirkulierenden möglichst gleichenden Zustande zu gewinnen, und seine Wirksamkeit mit der des Serums verglichen. Die auffälligste Veränderung, die das Blut nach dem Verlassen der Gefäfse erleidet, ist die Gerinnung; hatte man sie bei Gewinnung eines Plasmas ausgeschlossen, so glaubte man eine Blutflüssigkeit vor sich zu haben, die dem intravasalen Plasma in seiner Zusammensetzung und Wirkung gleichgesetzt werden könne. Der Erste, der Blut unter Ausschliefsung der Gerinnung prüfte, war Nissen[60]). Er injizierte einem nüchternen Hund so viel von einer 5prozentigen

Peptonlösung in die Vena jugularis, dafs auf je ein Kilo Körpergewicht 0,3 g Pepton kam. Das 5—10 Minuten nach der Injektion entnommene Blut gerann in den ersten 48 Stunden nicht und tötete Typhusbazillen, Choleravibrionen und den Coccus aquatilis ab. Blut eines Kaninchens oder Hundes, das er durch Magnesiumsulfat-Zusatz flüssig erhalten konnte, gab bezüglich der Bakterizidie schwankende Resultate. Ferner prüfte er eisgekühltes, von seinen Blutkörperchen durch Filtration befreites Pferdeplasma und fand bei ihm die gleiche vernichtende Kraft gegenüber den ihm zugesetzten Bakterien wie im defibrinierten Blut. Buchner[61]) bestätigte die bakterientötende Fähigkeit des Peptonplasmas vom Hunde. Da er in künstlichen Fibrinogen- und Fibrinferment-Lösungen ungehindertes Bakterienwachstum konstatierte, so hielt er den Fibrinogengehalt des Plasmas und den Fermentreichtum des Serums hinsichtlich ihrer Bakterizidie für belanglos, wie er überhaupt die extravasalen, mit der Gerinnung einhergehenden Veränderungen des Blutes so gering anschlug, dafs er sich für berechtigt hielt, die am extravasalen Blute gewonnenen Resultate über das bakterizide Vermögen ohne weiteres auf das intravasale zu übertragen. Hahn[62]) benutzte eine 1 prozentige Histonchlorhydrat-Lösung, um der Gerinnung des Kaninchenblutes vorzubeugen und fand das Histonblut ebenso bakterizid wie das Serum des betreffenden Tieres.

Als eine Hauptstütze der Lehre Metschnikoffs und als erste Arbeit, die sich ausführlicher mit der Frage der Präexistenz des Alexins im normalen Blutplasma beschäftigt, verdient die Arbeit Gengous[63]) besondere Beachtung. Gengou verwirft die Benutzung von Peptonblut sowie von Natriumoxalat- und Magnesiumsulfat-Plasma für den verfolgten Zweck, da Pepton und die beiden Salze die Leukozyten schädige und die Salze aufserdem die Wirkung gegenüber Milzbrandbazillen und Choleravibrionen aufheben. Er verfährt daher bei der Darstellung seiner Plasmen so, dafs er Blut in sterilen Gefäfsen abkühlte und durch energisches Zentrifugieren aus ihm die korpuskulären Elemente ausschleuderte oder dafs er nach Freunds Beispiel das Blut

in paraffinierten Röhren auffing und gekühlt oder ungekühlt intensiv zentrifugierte. Diese Plasmen waren nicht Plasmen im eigentlichen Sinne, denn sie gerinnen in kürzerer oder längerer Zeit wegen ihres Fibrinfermentgehaltes spontan. Dieser war allerdings geringer als der des entsprechenden Serums. Wenn daher die Plasmen sich in mäfsigem Grade bakterizid erwiesen, so lag das nach Gengou daran, dafs ein gewisser Leukozytenzerfall und eine hierdurch bedingte Abgabe von Fibrinferment und Alexin unvermeidlich war. Ebensowenig wie das Fibrinferment existiere das Alexin intravasal. Sehen wir uns Gengous Versuchsresultate etwas an, so kann man die schwerwiegenden Folgerungen, die dieser Autor aus seinen Versuchen schliefst, eben nur verstehen, wenn man bedenkt, dafs er ein Schüler Metschnikoffs ist und er in einer vorhergehenden Arbeit den sicheren Nachweis für die Herkunft des Alexins aus den Leukozyten erbracht haben wollte. Wirklich auffallende Differenzen zwischen Plasma- und Serumwirkung ergab nur die Prüfung Milzbrandbazillen gegenüber. Auf Grund der Arbeiten von Gruber und Futaki können wir demnach annehmen, dafs es in diesen Fällen Gengou gelang, die Plättchen vor ihrem Zugrundegehen aus dem Plasma auszuschleudern, und wir wissen, dafs hinsichtlich der Frage der An- oder Abwesenheit des gewöhnlichen Alexins die mit Milzbrandbazillen angestellten Versuche wertlos sind. Gegenüber Choleravibrionen, Typhus- und Kolibazillen zeigte sich in den aufgeführten Beispielen das Plasma allerdings durchgehends schwächer, teilweise aber nur in den Grenzen der bei bakteriziden Versuchen zu erwartenden Versuchsfehler. Gengou fiel der Unterschied, der hinsichtlich der Empfindlichkeit dem Plasma und dem Serum gegenüber zwischen Milzbrandbazillen und den anderen verwendeten Mikroorganismen besteht, auf; da er aber in dem Umstande, dafs das Serum nach Digestion mit sensibilisierten Hühnerblutkörperchen gegenüber beiden Mikroben seine Wirksamkeit verloren hatte, einen Grund für die Identität der milzbrand- und choleratötenden Stoffe erblickte, und da er bei Verwendung von Milzbrandbazillen stets einen Unterschied zwischen Plasma und Serum beobachten

konnte, hielt er sie als Testobjekt für vergleichende Versuche für besonders geeignet.

In seiner fast gleichzeitig angestellten Untersuchung konnte Petterson[64]) Gengous Resultate in keiner Weise bestätigen. Petterson verhinderte die Gerinnung der Blutflüssigkeit durch Zusetzen von 1% Kalium- resp. Natriumoxalat oder von 4% Kaliumzitrat. Die von Gengou angenommene alexinzerstörende Wirkung der Oxalate trifft nur dem Milzbrandbazillus gegenüber zu, während die Wirkung des Serums auf andere Bazillen wie Typhus-Kolibazillen durch Zusatz von Oxalat sogar etwas verstärkt wird; das gleiche gilt, wenn auch in geringerem Maſse, von dem Zitrat. Sind auch die durch Zentrifugieren zellfrei gewonnenen Oxalat- und Zitratplasmen dem natürlichen Plasma nicht gleichwertig, so sind sie letzterem doch ähnlicher als das Serum und gestatten daher nach Annahme Pettersons, sehr wohl, Schlüsse auf die Verhältnisse des zirkulierenden Blutes zu ziehen. Es erwiesen sich diese künstlichen Plasmen beim Hund und Kaninchen stets um ein Geringes wirksamer als das mit den gleichen Mengen der gerinnungshemmenden Substanzen versetzte Serum der betreffenden Tiere. Die Überlegenheit der keimfeindlichen Kraft der Plasmen erklärt Petterson damit, daſs bei der Gerinnung die roten Blutkörperchen Zeit haben, nährende Stoffe ins Serum abzugeben und daſs das Fibrin die Eigenschaft besitzt, Alexin zu absorbieren. Auch die künstlichen Plasmen zeigten eine Verminderung ihres bakteriziden Vermögens, wenn sie statt sofort nach der Blutentnahme erst nach längerem Stehen mittels der Zentrifuge von den Blutkörperchen getrennt werden. Nach Gengou sollte man das Gegenteil erwarten. Bei Rind, Katze, Schaf und Pferd wirkte zuweilen das Serum stärker.

Unter Grubers Leitung hatte Doemeny[65]) die hämolytische Wirkung von normalem Blutplasma und Blutserum geprüft. Das Plasma wurde in paraffinierten Gefäſsen gewonnen, während Serum durch Auffangen des Blutes in flachen Schalen rasch zur Abscheidung gebracht wurde. Die Hämolyse war in Plasma und Blutserum normaler Tiere ungefähr gleich. Wie sich in dieser Beziehung Plasma und Serum von Tieren verhalten,

welchen ihre eigenen Erythrozyten präparierendes Serum in die Bauchhöhle eingespritzt worden war, liefs Gruber im Anschlufs an seinen oben angeführten klassischen Versuch und zur Wiederlegung der von Levaditi gegen ihn gemachten Einwände durch Bellei[66]) untersuchen. Die Methode der Plasma- und Serumgewinnung war die gleiche, die Doemeny benutzt hatte. Mit einer einzigen Ausnahme waren in sämtlichen Versuchen Plasma und Serum der vorbehandelten Tiere rot gefärbt und zwar war in den überwiegendən Fällen das Serum hämoglobinhaltiger als das Plasma. Dafs dieser Unterschied nicht der Ausdruck eines schwächeren Alexingehaltes des Plasmas war, sondern dadurch erklärt wurde, dafs dem Plasma die Zeit gefehlt hatte, seine lösende Kraft zu betätigen, bewies Bellei folgendermafsen. Er verblutete Meerschweinchen 12—14 Stunden nach Injektion gewisser Mengen präparierten Serums. Das gewonnene Blut wurde teils als Plasma, teils als Serum verarbeitet. Beide waren hämoglobinhaltig, das Serum stärker. Setzte er nun zu dem Plasma im Überschusse Blutkörperchen, die vorher aus ihm ausgeschleudert waren und zu dem Serum ebenso im Überschusse Blutkörperchen, die aus dem Blutkoagulum ausgewaschen waren und schüttelte er beide Proben 2—4 Stunden bei 37°, so trat nachträglich Hämolyse in dem Grade ein, dafs schliefslich die pro Kubikzentimeter Plasma resp. Serum gelösten Blutkörperchenmengen gleich waren.

Eingehende Versuche mit Peptonplasma nahmen Hewlett[67]) und Pfeiffer[68]) in Krehls Laboratorium vor. Doch wie bei der Kompliziertheit der durch die intravenösen Peptoninjektionen im Blute geschaffenen Verhältnisse von vornherein zu erwarten war, sind ihre Resultate nicht geeignet, die Lösung der uns interessierenden Frage zu fördern. Hewlett stellte bei dem mit Pepton behandelten Hunde eine mit der Gerinnungsfähigkeit einhergehende Verminderung der bakteriziden und hämolytischen Kraft des Plasmas fest. Doch bestand zwischen den drei Funktionen durchaus kein Parallelismus; denn während gewöhnlich 8—12 Stunden nach der Peptoninjektion die Gerinnungsfähigkeit zurückgekehrt war, war die Kraft des Serums noch nicht wieder

auf der ursprünglichen Höhe. Wurde bei demselben Tiere eine zweite Peptoninjektion nach Wiederkehr der Gerinnbarkeit und vollen Alexinwirkung gemacht, so litt letztere von neuem, während entsprechend der bekannten nach einmaliger Peptoninjektion eintretenden Peptonimmunität die Gerinnungsfähigkeit unbeeinflufst blieb. Ähnliches ergaben Pfeiffers Versuche, bei denen defibriniertes Huhn- und Gansserum nach Peptoninjektionen gegenüber den Erythrozyten verschiedener Tiere geprüft wurde. Auch hier erwies sich die hämolytische Kraft herabgesetzt, während bekanntlich die Gerinnung nicht gestört wurde. Bei Kaninchen jedoch, bei denen durch die Peptonvergiftung ebenfalls keine Abkürzung der Gerinnungszeit eintritt, blieb die hämolytische Kraft dieselbe. Normales Gansplasma, das sich Hewlett nach der Methode von Delezenne dadurch verschaffte, dafs er mit Hilfe eines in die Halsvene eingebundenen Glasrohres Blut entzog und dieses sofort zentrifugierte, löste fremde Erythrozyten und vernichtete Kolibazillen in gleicher Weise wie das Serum.

Eines besonderen Verfahrens, Plasma unter möglichster Schonung der Zellelemente des Blutes zu gewinnen, bedienten sich neben der Freundschen Methode die belgischen Forscher Falloise[69]), Lambotte[70]) und Herman[71]). Nach dem Vorbilde von Frédéricq legten sie an dem lebenden Tiere (Pferd, Hund, Kaninchen) eine grofse Halsvene auf eine möglichst grofse Strecke frei und entnahmen nach Ligatur des blutgefüllten Stückes Vene dieses, um es auf 2—3 Stunden in einem gekühlten Gefäfse senkrecht aufgehängt zu halten. Nach dieser Zeit hatten sich die Mehrzahl der Blutkörperchen in dem Venenstück zu Boden gesetzt, die über ihnen stehende Flüssigkeit wurde nach Eröffnung des Gefäfsrohres mit paraffinierten Pipetten abgehoben und in paraffinierten Röhrchen zentrifugiert. Die auf diese Weise fast zellfrei gemachten Plasmen halten sich je nach der Tierart und der Temperatur verschieden lange flüssig. Falloise, der ihre hämolytische Kraft prüfte, fand sie beim Pferd, Hund und Kaninchen der des Serums gleich, beim Huhn sogar überlegen. Eine Verminderung der Leukozyten trat infolge des

Zentrifugierens nicht ein, auch konnte er sich durch mikroskopische Feststellung amöboider Bewegungen vom lebenden Zustande überzeugen. Auf Grund dessen bestreitet er eine Schädigung der Leukozyten, die für den Übertritt von Alexin in das Serum verantwortlich gemacht werden könnten. Dies glaubte er um so eher tun zu können, als weder die Dauer des Zentrifugierens noch die Zahl der im Plasma enthaltenen Leukozyten von Einflufs auf die Wirksamkeit der Plasmen ist. Die auf seine Anregung von Lambotte vorgenommene Untersuchung hinsichtlich des bakteriziden Verhaltens derartig dargestellter Plasmen führte zu entsprechenden Resultaten. Lambotte studierte am hängenden Tropfen das Zugrundegehen präparierter Choleravibrionen nach Zusatz von Plasma und Serum und fand keinen Unterschied in ihrer vernichtenden Wirkung. Eine wesentliche Vervollkommnung dieser Art Plasmadarstellung glaubte Herman dadurch erreicht zu haben, dafs er das Blut in der herausgenommenen Vene, die er in einer Röhre mit physiologischer Kochsalzlösung aufhängt, zentrifugierte. Ob diese Variante so wichtig ist, bleibe dahingestellt; eine Erklärung für die abweichenden Ergebnisse, die Herman mit ihr erhält, dürfte sie wohl kaum gewähren. Nach Herman nämlich löst Huhnplasma keine Kaninchenblutkörperchen, während des Serum derselben Tiere sie zerstört. Ebenso fehlt hämolytisches Alexin in dem Plasma von Meerschweinen, die mit Kaninchenblut vorbehandelt sind, indem letztere nur von dem Serum dieser Tiere aufgelöst werden. Hinsichtlich der Bakterizidie prüfte er Plasma und Serum von Kaninchen, die mit Choleravibrionen immunisiert waren. Ihr Plasma vermochte die verwendeten Vibrionen nur zu agglutinieren, während das Serum sie agglutinierte und zur Lösung brachte. Entsprechend diesen Befunden schliefst Herman auf die Abwesenheit des Alexins im zirkulierenden Plasma. Auch in Mionis[72]) Versuchen fehlte dem mit Natriumfluorid versetzten Plasma des Rindes und Hundes ein Meerschweinblutlösendes Alexin, das nach seiner Ansicht erst extravasal von den Leukozyten abgegeben wird.

Ein gewisses Interesse beanspruchen ferner Walkers[73]) Versuche. Er beobachtete, dafs das Serum normaler und gegen Typhusbazillen immunisierter Kaninchen, das 4—6 Stunden nach der Blutentziehung abgeschieden war, stärker als das nach 1 bis 2 Stunden ausgeprefste auf Typhusbazillen wirkte. Liefs er aber das Serum vom Schaf länger als 6 Stunden mit dem Blutkuchen in Kontakt, so trat eine Abnahme der bakteriziden Kraft ein. Defibriniertes Blut enthält sogleich nach dem Ausschlagen des Fibrins sein Maximum an Alexingehalt, der von Stunde zu Stunde abnimmt und stets gröfser als der des Serums ist. Daraus schliefst Walker, dafs das Alexin durch Zerstörung der Leukozyten erst aufserhalb der Blutbahn gebildet wird. Die gleichen Folgerungen zieht Mioni aus Untersuchungen am Fluorplasma vom Rind und Hund, in denen er das meerschweinerythrozytenlösende Alexin erst allmählich im Verlauf mehrerer Stunden aus den Leukozyten frei werden sah.

Eine sehr ausführliche Bearbeitung erfuhr die vorliegende Frage durch Löwit und Schwarz[74]). Ihre Untersuchungen erstreckten sich auf Magnesiumsulfat-, Kochsalz-, Oxalat-, Fluor-, Monokaliumphosphat-, Zitrat-, Blutegelextrakt-, Eisen-Plasma von Kaninchen, Meerschweinchen, Hunden, Katzen, Affen, sowie auf Plasma von Enten und Gänsen. In Erwägung der Tatsache, dafs die Ungerinnbarkeit der verschiedenen künstlichen Blutplasmen noch kein Beweis dafür ist, dafs diese Plasmen wirklich fibrinfermentfrei sind, dafs aber ein etwaiger Fermentgehalt ein bedeutungsvolles Moment gegen die Gleichstellung des extravasalen mit dem intravasalen Plasma abgibt, versuchten sie, fibrinfermentfreie Plasmen darzustellen und als Mafsstab für die Veränderung, die ihre Plasmen nach Verlassen der Gefäfse erlitten hatten, den in ihnen gefundenen Fibrinfermentgehalt. Die Bestimmung des letzteren geschah hauptsächlich in der von A. Schmidt angegebenen Weise mit Magnesiumsulfatplasma. Keine der erwähnten Plasmaarten war fibrinfermentfrei. Als völlig unbrauchbar für vorliegende Versuche erwies sich das Kochsalz- und Eisenoxydulplasma; ersteres deshalb, weil die zur Verhinderung der Gerinnung notwendige Salzmenge relativ grofs

sein mufs, zu starkem Erythrozytenzerfall führt und aufserdem im Thermostaten nach Impfung mit den Testkeimen nicht selten Gerinnung eintrat. Das nach intravenöser Injektion von 1 prozentigem Eisenoxydul entnommene Kaninchenblut gerann bei 30° innerhalb wenigen Minuten. Im Magnesiumsulfat- und Monokaliumphosphat-Plasma war keine bakterizide Wirkung (gegen Typhusbazillen) nachweisbar; in beiden Fällen ist das Fehlen einer Keimvernichtung im Plasma kein Beweis für die Abwesenheit des Alexins im strömenden Blute; vielmehr scheint sie im Magnesiumsulfatplasma durch den schädigenden Einflufs, den das Salz auf das Alexin ausübt, im Phosphatplasma durch die Begünstigung der Wachstumsbedingungen der Mikroben durch das Phosphat bedingt zu sein. Im Blutegelextrakt-Plasma, das spontan bei Bruttemperatur gerann, liefs sich eine deutliche Bakterizidie gegen Typhus und Cholerabazillen nachweisen. Vogelplasma, das auch ohne Zusatz selbst bei Einwirkung höherer Temperatur länger als 24 Stunden nicht gerann, wird dennoch als fermenthaltig bezeichnet und daher die in ihm gefundenen Bakterizidie nicht als Beweis für die Existenz des Alexins im Normalplasma erachtet. Die bereits von Petterson im Oxalatplasma beobachtete Verstärkung der bakteriziden Wirkung konnten Löwit und Schwarz wie im Oxalatplasma auch in Fluor- und in geringem Grade im Zitratplasma feststellen. Doch da im Oxalat- und Fluorplasma stets ein deutlicher Gehalt »an Fibrinferment oder an einem der Thrombinreihe angehörigen Körper« und im Zitratplasma ein starker Fermentgehalt nachweisbar war, so gestattet nach Ansicht der beiden Autoren die Anwesenheit der bakterienvernichtenden Kraft in diesen drei Plasmaarten keinen Rückschlufs auf die im zirkulierenden Plasma bestehenden diesbezüglichen Verhältnisse. So bezeichnen Löwit und Schwarz am Schlusse ihrer mühevollen Arbeit das Resultat ihrer Untersuchungen mit einer gewissen Resignation als ein vorwiegend negatives. Sie erachten die alte Frage nach der Präexistenz der bakteriziden Wirkung im zirkulierenden Normalblute für noch ungelöst und sprechen ihre Zweifel aus, ob die Prüfung des extravasalen Blutes in Gestalt

verschiedener Plasmen die richtige Methode ist, um eine Entscheidung über An- oder Abwesenheit der bakteriziden Funktion im intravasalen Blute herbeiführen zu können.

Trotz dieses von den beiden Forschern gehegten Pessimismus wurden die folgenden Untersuchungen mit extravaskulären Blutflüssigkeiten zur Lösung der Frage über die Präexistenz des Alexins im strömenden Blute angestellt. Über einen Teil der Untersuchungen, die bereits im Wintersemester 1905/06 begonnen wurden, ist schon in einer Sitzung der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie am 9. Februar 1906 (s. Sitzungsberichte der Gesellschaft 1906) berichtet worden, und zwar über die Versuche mit Fluorplasma und Kammerwasser sowie über das von uns geübte Verfahren der Blutplättchendarstellung, das inzwischen bei den Versuchen von Gruber und Futaki über die Milzbrandimmunität sich so brauchbar erwiesen hat.

Die von Metschnikoff und seinen Schülern immer wieder betonte Vergänglichkeit der Leukozyten und die darauf gestützte Lehre, dafs das Alexin des Blutserums das extravaskuläre Produkt des Zerfalles dieser Zellen ist, ist wohl von Alexander Schmidt inauguriert. Dieser auf dem Gebiete der Blutgerinnung so hervorragende Forscher vertrat die Ansicht, dafs das im Blute fehlende Fibrinferment durch den extravaskulären Zerfall der Leukozyten frei wird; es war daher ein Analogieschlufs, wenn man auf gleiche Weise das Alexin, das nach Buchner ebenfalls ein proteolytisches Ferment sein sollte, entstehen liefs. Von der Annahme reichlichen Leukozytenunterganges bei der Blutgerinnung ist man inzwischen auf Grund der Arbeiten von Bayon[76]), Arthus[77]), Dastre[78]), Stassano[79]), Rüchel[80]) und Spitta[81]) immer mehr abgekommen. Auch wir möchten auf Grund einiger Versuche, die an Kaninchen angestellt wurden, einen erhöhten Leukozytenzerfall bei der Gerinnung bestreiten.

Wir entzogen normalen Kaninchen in gewöhnlicher Weise Blut aus der Carotis und stellten sofort, sowie nach viertelstündigem gleichmäfsigen, nicht allzu starken Schütteln mit Glasperlen

nach Thoma-Zeiſs die Zahl der in ihm enthaltenen Leukozyten fest.

Zählung der Leukozyten nach Thoma-Zeiſs:

	Leukozyten in 1 cmm frisches Blut	Leukozyten in 1 cmm defibrin. Blut	Verminderung im defibrin. Blut um
1. Kaninchen . .	9 800	6 400	34 %
2. » . .	8 800	6 200	29 »
3. » . .	10 200	8 300	19 »
4. » . .	9 200	5 000	45 »

Dies sind gewiſs ziemlich schwankende Zahlen, deren Zustandekommen wir zum teil wenigstens auf den verschiedenen Grad der Gerinnselbildung zurückführen möchten. Bei Tier 3 war sie z. B. gering, während bei Tier 4 auffällig dicke und derbe Coagula sich fanden. Diese wurden in Schnittpräparaten untersucht und enthielten in ihrem Fibrinnetz reichliche Mengen normal aussehender Leukozyten. Läſst sich ihre Zahl natürlich auch nicht einmal annähernd bestimmen, so war sie ebenfalls recht wechselnd und reichte sehr wohl hin, um die Abnahme der Leukozyten im defibrinierten Blute zu erklären.

Um ein Urteil über den Lebenszustand der in den Fibrinmassen eingeschlossenen Leukozyten zu erhalten, wurden die Leukozyten aus den Gerinnseln nach Möglichkeit durch Aufschütteln und Auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung wieder entfernt. Die so erhaltenen, mit Erythrozyten vermischten Leukozyten wurden unter Zusatz einer geringen Menge des zugehörigen aktiven Serums auf ihre Freſstätigkeit, Typhusbazillen gegenüber, geprüft. Diese war trotz der verschiedenen Prozeduren, die mit den Leukozyten vorgenommen waren, so ausgiebig, wie nur von normalen Leukozyten erwartet werden kann. Ist es demnach unwahrscheinlich, daſs eine gröbere Schädigung der Leukozyten, die, wie noch weiter gezeigt wird, durchaus keine vergänglichen Gebilde sind, mit der Gerinnung einhergeht und ein Zerfall dieser Zellen die Ursache für den Austritt des Alexins ins Serum bildet, so ist doch noch die Möglichkeit der Annahme gegeben, daſs eine Sekretion dieser wirksamen Substanzen auſserhalb der Blutgefäſse eintritt. Vorausgesetzt, daſs

diese Sekretion nich »explosionsartig«, wie die französischen Autoren anzunehmen belieben, erfolgt, müfste man im extravasalen Blut bis zu einem gewissen Grade einen um so gröfseren Alexingehalt vermuten können, je besser und je länger die Leukozyten Gelegenheit hatten, ihre Stoffe abzugeben. Es müfsten sich Unterschiede in der Wirksamkeit der Sera und Plasmen, entsprechend ihrer verschiedenen Darstellungsart, ergeben, wie sie Hankin[82]), Walker l. c. und Mioni l. c. beobachtet haben wollen.

Im folgenden seien einige Versuche aufgeführt, die den Zweck hatten, zu untersuchen, welchen Einflufs verschiedene Faktoren bei der Darstellung des Serums auf seinen Alexingehalt ausüben. Die Versuche wurden an Kaninchen, Meerschwein, Huhn und Hund angestellt. Zunächst wurde mit Rücksicht auf Walkers Angaben geprüft, ob tatsächlich das Serum, das durch sofortiges Defibrinieren und Zentrifugieren des Blutes gewonnen wurde, stärker wird als das bei der Gerinnung abgeschiedene.

Versuch Nr. 1.

Normales Kaninchen. Blutentziehung aus der Carotis. Ein Teil des Blutes wird bei Zimmertemperatur erstarren gelassen und etwas Serum 5 Stunden nach der Blutentziehung gewonnen; eine andere Blutmenge wird durch Schütteln mit Glasperlen sofort defibriniert und dann klar zentrifugiert. Beide Serumproben kommen 6 Stunden nach dem Verbluten des Tieres zur Verwendung. Das Serum des defibrinierten Blutes hat eine leicht rötliche Nuance.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm; davon ist 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in 0,85 % Kochsalzlösung. Die Typhusbazillen stammen von einer jungen 6—8 stündigen Agarkultur. Auffüllungsflüssigkeit ist ebenfalls physiologische Kochsalzlösung. Die Aussaaten werden in der Menge von 0,05 ccm mit eigens angefertigten Kapillarpipetten gemacht.

Art und Menge des Serums		Koloniezahl			
		Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,4 ccm akt. Serum	nach spontaner Gerinnung	131	9	1	0
0,1 » » »		136	71	0	0
0,4 » » »	nach Defibrinierung	132	16	6	0
0,1 » » »		130	121	25	0

Im Gegensatz zu *Walker* haben wir in der Regel, wie im vorstehenden Fall, eine geringe Herabsetzung der Wirksamkeit des defibrierten Blutserums beobachtet, die auf einer durch zugrunde gegangene Erythrozyten bewirkte Nährstoffanreicherung des Serums beruhen dürfte; ein geringer Hämoglobingehalt kennzeichnete in diesen Fällen den Untergang von roten Blutkörperchen. *Wie wenig Einfluſs die Temperatur hat, bei der Gerinnung vor sich geht, läſst folgender Versuch erkennen.*

Versuch Nr. 2.

Bei gesundem Huhn und Kaninchen Blutentziehung aus der Carotis. Von jedem Tier wird je eine Blutprobe in schmelzendem Eis und bei 41° resp. 38° der Gerinnung überlassen. Nach 20 Stunden werden die klaren Sera aufgehoben und verwendet.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung, Aussaat je 0,05 ccm.

Inhalt der Röhrchen	Aussaat	Koloniezahl 1 Std.	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,4 ccm akt. 0° Huhnserum	1330	0	0	0	0
0,05 » » 0° » »	1350	0	0	0	0
0,4 » » 41° » »	1200	0	0	0	
0,05 » » 41° » »	1210	0	0	0	0
0,4 » » 0° Kaninchenserum	1280	370	60	0	0
0,05 » » 0° » »	1260	720	740	3200	∞
0,4 » » 38° » »	1280	430	0	0	0
0,05 » » 38° » »	1310	750	840	6100	∞

Hämolytischer Versuch.

20 ccm einer 5 proz. Aufschwemmung dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschenen Meerschweinblutkörperchen werden abzentrifugiert, der Bodensatz wird in 2 ccm eines Gemisches von 0,4 ccm bei 56° eine Stunde inaktivierten Antimeerschweinblutkörperchen-Serum von Kaninchen + 1,6 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung aufgerührt und unter wiederholtem Umschütteln eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Von dieser präparierten Meerschweinblutkörperchen-Aufschwemmung werden je 0,1 ccm als Testobjekte zu den Röhrchen, die abgestufte Mengen der zu prüfenden Sera enthalten, zugesetzt.

Inhalt der Röhrchen je 0,5 ccm, davon je 0,1 ccm präparierten Meerschweinblutkörperchen-Aufschwemmung; zur Auffüllung wird 0,85 proz. NaCl-Lösung verwendet; Beobachtung 2 Stunden bei 38°. Dann kommen die Proben über Nacht in den Eisschrank.

Inhalt der Röhrchen	Hämolyse nach 2 Stdn., 38°
0,4 ccm akt. 0° Hühnerserum	vollständig
0,1 » » 0° » »	teilweise
0,05 » » 0° » »	teilweise
0,4 » » 41° » »	vollständig
0,1 » » 41° » »	teilweise
0,05 » » 41° » »	teilweise
0,1 » » 0° Kaninchenserum . . .	vollständig
0,05 » » 0° » » . . .	vollständig
0,01 » » 0° » » . . .	teilweise
0,1 » » 38° » » . . .	vollständig
0,05 » » 38° » » . . .	vollständig
0,01 » » 38° » » . . .	teilweise

Wir sehen also keine Steigerung der bakteriziden und hämolytischen Aktion bei der einer vitalen Betätigung der Leukozyten günstigeren Temperatur von 41° resp. 38°, auf die noch zu rechnen wäre, wenn überhaupt die Neigung bei den Leukozyten des Blutes bestünde, Stoffe nach dem Verlassen der Gefäfse zu sezernieren. Ebenso ist auch die Kälteeinwirkung für den Alexingehalt belanglos, was nicht verständlich wäre, wenn erst durch extravaskuläre Sekretion der Leukozyten das Serum seine Wirkung erhalten müfste. Gegen die Annahme eines allmählichen Übertrittes von Alexin aus den Blutkörperchen spricht auch folgender Versuch.

Versuch Nr. 3.

Normales Kaninchen 2100 g. Blutentnahme aus der Carotis; Blut zu gleichen Teilen in sechs Röhrchen verteilt, eine Probe durch Schütteln sogleich defibriniert und zentrifugiert; eine zweite im Eisschrank der langsamen Gerinnung überlassen; die anderen vier kommen sofort in das Wasserbad von 38°, wo sie 8 ½ Stunden verbleiben. Sie gerinnen hier ziemlich rasch, so dafs nach 2 ½ Stunden aus einem Röhrchen hinreichend Serum zur Ausscheidung gekommen ist, das herausgenommen wird. Ebenso wird nach 4 ½ Stunden, nach 6 ½ und 8 ½ Stunden aus einem weiteren der vier Röhrchen das ausgeprefste Serum entnommen

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung. Aussaat je 0,05 ccm.

Inhalt der Röhrchen	Kolonlezahl Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum nach Defibrinierung	990	930	60	0
0,4 » akt. Kaninchenserum nach 2 1/2 Std. b. 38° abgeschied.	1060	960	60	0
0,4 » akt. Kaninchenserum nach 4 1/2 Std.	1010	980	10	0
0,4 » akt. Kaninchenserum nach 6 1/2 Std.	1040	990	50	0
0,4 » akt. Kaninchenserum nach 8 1/2 Std.	1040	1010	60	0
0,4 » akt. Kaninchenserum nach langsamer Gerinnung im Eisschrank	1000	1000	50	0

Hämolytischer Versuch.

Jedes Röhrchen enthält je 0,5 ccm, davon je 0,1 ccm präparierter Meerschweinblutkörperchen-Aufschwemmung. Die Röhrchen bleiben 2 Stunden bei 38°.

Art des Serums	Hämolyse durch eine Serummenge von ccm 0,1	0,05	0,025	0,01
Serum nach Defibrinierung	vollständig	teilweise	geringe	Spur
Serum nach Gerinnung abgeschieden in 2 1/2 Std.	»	»	»	»
» 4 1/2 »	»	»	»	»
» 6 1/2 »	»	»	»	»
» 8 1/2 »	»	»	»	»
Serum nach langsamer Gerinnung im Eisschrank	»	»	»	»

Ein Anschwellen des keimtötenden und blutkörperchenlösenden Vermögens infolge etwaigen Überganges wirksamer Substanzen aus den Leukozyten ist also nicht zu beobachten. Dafs dagegen die Alexinwirkung in Serum, das bald nach seiner Ausscheidung vom Blutkuchen getrennt wurde, sich besser erhält als in solchem, das mit dem Koagulum länger in Kontakt blieb, ist eine vielfach bestätigte Tatsache und dürfte darin nach Buchner, Petterson u. a. seinen Grund haben, dafs nährende Stoffe vielleicht durch Autolyse aus dem Gerinnsel in das Serum übertreten, und dafs eine teilweise Absorption des Alexins durch das Fibrin eintritt.

Ändern sich die Verhältnisse, wenn die Gerinnung verhindert wird? Zur Beantwortung dieser Frage wurden Versuche an mehreren künstlichen Plasmen angestellt.

Versuch Nr. 4.

Aus der Carotis eines Kaninchens wird in drei Röhrchen, die je 0,7 ccm einer 4%igen Natriumzitratlösung enthalten, je 6,3 ccm Blut einfliefsen gelassen. Zwei Röhrchen werden nach gutem Mischen des Blutes mit der Zitratlösung sofort 10 Minuten zentrifugiert, bis sich über den hauptsächlich aus Blutkörperchen bestehenden roten Bodensatz ein durch weifse Blutkörperchen und Blutplättchen getrübtes Plasma abgeschieden hat. Beide Plasmen werden abgehebert und in zwei frische Röhrchen gebracht, von denen das eine sofort, das andere erst nach einstündigem Aufenthalt im Wasserbad von 38° bis zur völligen Klärung zentrifugiert wird. Zitratplasma I und II.

Das dritte Röhrchen bleibt zunächst 2 Stunden bei 38°, ehe es in die Zentrifuge kommt. Zitratplasma III.

Eine vierte Blutmenge wird bei Zimmertemperatur der Gerinnung überlassen.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung.

Art und Menge des Serums resp. Plasmas.	Kolonie-Zahl. Aussaat.	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,4 ccm akt. Kaninchenserum	97	0	0	0
0,1 » » » »	101	0	0	0
0,025 » » » »	98	3	2	∞
0,4 » » Zitratplasma I.	94	0	0	0
0,1 » » » » »	100	0	0	0
0,025 » » » » »	106	7	1	∞
0,4 » » » » II.	96	0	0	0
0,1 » » » » »	97	0	0	0
0,025 » » » » »	95	6	3	9240
0,4 » » » » III.	92	0	0	0
0,1 » » » » »	93	0	0	0
0,025 » » » » »	92	8	3	∞

Die Hämolyse präparierter Meerschweinblutkörperchen war im Serum und in den drei Plasmen gleich, indem 0,1 ccm vollständige Lösung herbeiführte.

Versuch Nr. 5.

Einem 1990 g schweren Kaninchen wird 8 ccm Blut aus der Carotis entzogen und behufs Abscheidung von Serum bei Zimmertemperatur erstarren gelassen. Hierauf erhält das Tier 4 ccm einer Lösung von 0,1 g Hirudin-Sachsse in 5 ccm physiolog. Kochsalzlösung in die Iugularis eingespritzt. 15 Minuten nach der Hirudininjektion Entnahme von zwei Portionen Blut zu je 7 ccm Blut aus der Carotis. Die eine Probe wird sofort klar zentrifugiert, Hirudinplasma Ia, die andern erst nach einstündigem Aufenthalt bei 38°, Hirudin-Plasma Ib. Nach ³/₄ Stunden neuerliche Blutentziehung aus der Carotis in zwei Portionen zu je 7,0—8,0 ccm, Zentrifugieren der einen sofort: Hirudin-Plasma IIa, der anderen nach zweistündigem Stehen bei 38°, Hirudin-Plasma IIb. Nach 4 Stunden wieder Blut aus der Carotis entnommen und zwei Proben zu je 8,0 ccm, von denen die eine sofort ausgeschleudert wird und flüssig bleibt, Hirudin-Plasma IIIa, die andere erst ins Wasser gebracht, hier in 20 Minuten gerinnt; das ausgepreſste Serum als Hirudin-Serum IIIb verwendet.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in phys. Kochsalzlösung.

Aussaat 0,1 ccm.

Art und Menge des Serums resp. Plasmas.	Kolonie-Zahl. Aussaat.	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,4 ccm akt. norm. Kaninch. Serum	64	0	0	0
0,1 » » » » »	59	9	2	0
0,4 » » Hirudin-Plasma Ia	63	3	0	0
0,1 » » » » »	60	24	5	0
0,4 » » » » Ib	60	0	0	0
0,1 » » » » »	63	22	0	0
0,4 » » » » IIa	68	0	0	0
0,1 » » » » »	60	6	0	0
0,4 » » » » IIId	69	1	0	0
0,1 » » » » »	61	12	4	0
0,4 » » » » IIIa	66	0	0	0
0,1 » » » » »	63	26	5	0
0,4 » » » » IIIb	63	4	0	0
0,1 » » » » » 2	59	59	60	650

Hinsichtlich der Hämolyse war ebenfalls kein Unterschied zu beobachten. 0,1 ccm des Serums und der verschiedenen Plasmenarten vermochten 0,1 ccm präparierten Bodensatz von 20 ccm einer 5%igen Meerschweinblutkörperchen-Aufschwemmung in 2 Stunden bei 38° vollständig zu lösen. Auffällig ist die

deutliche Abschwächung des sog. Hirudin-Serums IIIb, für deren Erklärung eine Absorption des Alexins durch Fibrin wohl in Frage kommt.

Versuch Nr. 6.

Entsprechend Versuch II wird mit 4‰ Natriumzitrat versetztes Huhn- und Kaninchenblut einesteils nach Abkühlung in schmelzendem Eis sofort, anderenteils nach einstündigem Verweilen bei 41° resp. 38° bis zur nötigen Klärung des überstehenden Plasmas zentrifugiert und ihre Aktivität vergleichend geprüft.

Bakterizider Versuch.

Inhalt dei Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung.

Aussaat 0,05 ccm.

Inhalt der Röhrchen.	Aussaat.	Kolonie-Zahl. 3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,4 ccm akt. 0° Zitrathühnerplasma	117	0	0	0
0,05 » » » » » »	120	0	0	0
0,4 » » 41° » » »	122	0	0	0
0,05 » » » » » »	129	0	0	0
0,4 » » 0° Zitratkaninchenplasma	132	4	0	0
0,05 » » » » » » »	137	24	0	0
0,4 » » 38° » » » »	138	0	0	0
0,05 » » » » » » »	128	16	0	0

In ihrer hämolytischen Wirksamkeit verhielten sich die verschiedenen Plasmen vollkommen übereinstimmend.

In vorstehenden Versuchen wurde also gezeigt, dafs, ebenso wie die Sera, die Plasmen nachträglich keine Erhöhung ihres Alexingehaltes durch Leukozytenstoffe erfahren. Wir können daher annehmen, dafs, wenn extravaskulär im Serum und Plasma das Alexin gebildet wird, dies sehr rasch, ja momentan und wohl auch in einer die Leukozyten erschöpfenden Weise geschehen müfste. Insofern sind die bisher gewonnenen Resultate für die Entscheidung der vorliegenden Frage von einem gewissen Wert.

Dafs wir damit nicht den Beweis dafür erbracht haben, dafs das in den extravaskulären Blutflüssigkeiten vorhandene Alexin auch schon im Blute des lebenden Organismus kreist, wissen wir sehr wohl. Denn ebensowenig wie das nach der Gerinnung abgeschiedene Serum darf das von seinen Zellen

befreite Plasma trotz seiner Ungerinnbarkeit ohne Weiteres dem zirkulierenden Plasma gleichgesetzt werden. In Verfolgung des von Löwit und Schwarz entwickelten Gedankenganges, dafs »ein künstliches Blutplasma, das im allgemeinen und im besonderen mit Bezug auf sein Verhalten gegen Mikroben mit dem strömenden intravaskulären Blutplasma gleichgestellt werden soll, sich so wie dieses als frei von Fibrinferment erweisen mufs«, ging unser Streben zunächst dahin, ein fibrinfermentfreies Plasma darzustellen. Da den beiden Forschern dies trotz aller Bemühungen und Sorgfalt nicht gelungen war, mufsten wir von vornherein auf grofse Schwierigkeiten rechnen. Bei dem fördernden Einflufs, den jedes Zellprotoplasma und der Gewebssaft auf die Fibrinfermentbildung haben, galt es vor allem die Plasmen möglichst rasch und gründlich von den Zellen zu befreien, um den Zerfall derselben zu verhüten und das aus den Gefäfsen austretende Blut von jeder Berührung mit den Geweben fernzuhalten. Dies haben wir bei dem von uns ausgebildeten Verfahren erreicht; wegen der Wichtigkeit, den es für das Gelingen der Versuche hat, sei es genauer beschrieben. Von Bedeutung ist vor allem die Art und Weise der Blutentnahme. Das betreffende Blutgefäfs, meistens die Carotis, wird stumpf sorgfältigst frei präpariert und in möglichst weiter Strecke isoliert. Etwaige an ihm haftende Blutstropfen werden mit sterilem Filtrierpapier abgetrocknet. Distal von der Durchschneidungsstelle wird eine Ligatur angelegt, proximal von ihr wird das Gefäfsrohr mit einer kleinen Arterienklamme komprimiert. Die Arterie wird mit einer Pinzette etwas zentralwärts von der beabsichtigten Trennungsstelle am perivaskulären Bindegewebe gefafst und dann durchschnitten. Die zuerst austretende Blutmenge wird nicht aufgefangen. Durch richtige Haltung der Pinzette und Führung des Gefäfses ist dafür zu sorgen, dafs das Blut in kräftigem Strahle, ohne an der Arterie herunterzulaufen, direkt in das bereit gehaltene Zentrifugenröhrchen einfliefsen kann. Dieses ist zweckmäfsigerweise paraffiniert, gekühlt — absolut notwendig sind beide Mafsnahmen nicht — und enthält die gerinnungshemmende Salzlösung in einer solchen Kon-

zentration und Menge, daſs nach Zufluſs der neunfachen Quantität Blut in diesem der prozentuale Salzgehalt gerade die zur Verhinderung der Fermentbildung notwendige Stärke hat; z. B. enthält ein Röhrchen 1 ccm einer 3% Natriumfluoridlösung, zu der 9 ccm Blut einfließen müssen, bis die erwünschte Konzentration von 3‰ erreicht ist. Die Stelle, bis zu der das Blut einströmen muſs, ist nach vorhergehender Ausmessung des Röhrchens mit einem Farbstifte zu markieren. Die Mischung der Salzlösung mit dem Blute wird durch vorsichtiges Ausgießen in ein anderes Röhrchen begünstigt. Nach der Mischung werden in dem Röhrchen durch sofortiges kürzeres Zentrifugieren die roten und weiſsen Blutkörperchen ausgeschleudert. Die Zeit, welche hierzu notwendig ist, richtet sich, abgesehen von der Art und Menge des Blutes, nach der Kraft und Tourenzahl der Zentrifuge und ist vorher auszuprobieren. Pferde- und Vogelblut läſst rascher die Blutkörperchen zu Boden sinken als z. B. Kaninchen- und Meerschweinblut. Ist die Zeit des erstmaligen Zentrifugierens richtig getroffen, so steht über dem aus roten und weiſsen Blutkörperchen zusammengesetzten und ca. die Hälfte des Gesamtvolumens des Blutes betragenden Bodensatz das nur durch Blutplättchen getrübte Plasma. Ist zu kurz ausgeschleudert, so befinden sich in dem leicht rötlich gefärbten Plasma noch reichliche Blutkörperchen, während bei längerem Zentrifugieren auch die Plättchen zu Boden gerissen sind, die als weiſsliche Schicht dem Blutkörperchenbodensatz aufliegen. Das trübe Plasma wird vorsichtig abgehebert und bis zu seiner Klärung in einem neuen Röhrchen weiter zentrifugiert. Die so vom Plasma getrennten Plättchen bilden einen weiſslichen lockeren Bodensatz, der sich in Aufschwemmungsflüssigkeit behufs Waschung und Extraktion leicht verteilen läſst. Im Eisschrank kann man die Plättchen, die ich als selbständige im Blute existierende Gebilde und nicht als Zerfalls- oder Degenerationsprodukte von Leukozyten oder Erythrozyten anspreche, bis zu mehreren Tagen erhalten. Auch von unseren kleineren Laboratoriumstieren (Meerschwein, Ratte) vermag man auf diese Weise verwendbare Mengen Blutplättchen darzustellen; bei

Kaninchen beträgt bei gutem Gelingen die Ausbeute an Plättchen ca. 0,05 ccm und auch noch mehr pro 10 ccm Blut. Nach Entfernung der Hauptmasse der Plättchen empfiehlt es sich, in einem frischen Röhrchen mehrere Stunden das Plasma noch zu zentrifugieren, um die letzten Reste von diesen Gebilden zu eliminieren.

Für die zu berichtenden Versuche wurde als gerinnungshemmendes Salz das Natriumfluorid in einer Konzentration von 3‰ vorgezogen. Es geschah dies, weil nach Arthus[83]), dem es beim Hunde gelang, 3‰iges fibrinfermentfreies Fluorplasma herzustellen, das Fluornatrium in doppelter Weise die Gerinnung hemmt; einmal ähnlich wie Natrium- oder Kaliumoxalat durch Fällung der Kalksalze, dann aber auch dadurch, dafs es nach Art einer Beize auf die geformten Elemente einwirkt und sie an der Abgabe des durch die Kalksalze aktivierbaren Profermentes verhindert. Doch wurde auch vielfach Natriumzitrat in einer Konzentration von 4‰ und in vollkommen neutraler Lösung verwendet; und heute geben wir bei unseren Plasmen- resp. Plättchenversuchen diesem Salze den Vorzug. Zur Feststellung des Fibrinfermentgehaltes benutzten wir mit Löwit und Schwarz hauptsächlich in der von A. Schmidt angegebenen Weise verdünntes Magnesiumsulfatplasma. Dieses wurde unter allen sonst bei der Plasmadarstellung verwendeten Kautelen durch Aufsaugen des Blutes in 28% Magnesiumsulfatlösung — 1 Volumen auf 3 Volumen Blut — gewonnen. Zur Prüfung der Plasmen wurde 0,3 ccm desselben mit 3 ccm des verdünnten Magnesiumsulfatplasmas — 1 Volumen auf 15 Volumen destillierten Wassers — vermischt und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach einigen Mifserfolgen wurden Fluorplasmen erzielt, die, auf diese Weise geprüft, auch nach tagelangem Stehen bei Zimmertemperatur nicht den geringsten Fermentgehalt zeigten; dafs das Fluor- und Magnesiumplasma für sich unverdünnt und verdünnt, nicht gerannen, ist wohl kaum nötig zu bemerken. Es mufs allerdings zugestanden werden, dafs immerhin selten ein gänzliches Fehlen der Fibrinbildung bei der Schmidt'schen Fermentprobe zu konstatieren war; häufig schwamm nach 20 bis

36 Stunden eine kleine, zarte Fibrinflocke in dem Plasmengemisch.

Versuch Nr. 7.

Fluorplasma von Kaninchen, bei Prüfung mit verdünntem Magnesiumsulfatplasma fibrinfermentfrei befunden.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm, davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

Aussaat je 0,1 ccm.

Auffüllungsflüssigkeit 0,85 $^0/_0$ Na Cl-Lösung.

Art und Menge des Serums resp. Plasmas.	Kolonienzahl			
	Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,5 ccm akt. Normalserum	263	0	0	0
0,25 » » »	259	20	0	0
0,1 » » »	210	58	1	0
0,5 » » » + $3^0/_{00}$ Fluornatrium	222	0	0	0
0,25 » » » + 3 » »	231	0	0	0
0,1 » » » + 3 » »	240	23	0	0
0,5 » » $3^0/_{00}$ Fluorplasma	246	0	0	0
0,25 » » 3 » »	251	0	0	0
0,1 » » 3 » »	230	11	0	0
0,5 » inakt. (1 Std. 58°) Normalserum . . .	257	360	960	∞
0,5 » » (1 » 58°) » + $3^0/_{00}$ Fluornatrium	248	294	1180	∞
0,5 » » (1 » 58°) Fluorplasma . . .	249	410	1220	∞

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm; davon 0,1 ccm präparierter Hühnerblutkörperchen.

Auffüllungsflüssigkeit 0,85 $^0/_0$ Kochsalzlösung.

Inhalt der Röhrchen	Hämolyse nach 2 Std. 38°
0,05 ccm akt Normalserum	vollständig
0,025 » » »	fast vollständig
0,01 » » »	teilweise
0,005 » » »	gering
0,05 » » » + $3^0/_{00}$ Fluornatrium .	vollständig
0,025 » » » + 3 » » .	fast vollständig
0,01 » » » + 3 » » .	teilweise
0,05 » » » + 3 » » .	gering
0,005 » » $3^0/_{00}$ Fluorplasma	vollständig
0,025 » » 3 » »	fast vollständig
0,01 » » 3 »	teilweise
0,005 » » 3 » »	gering.

Versuch Nr. 8.

Fluorplasma vom Hund; Schmidt'sche Probe negativ.

Bakterizider Versuch.

Gesamtinhalt der Röhrchen 1,0 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung.

Aussaat je 0,1 ccm.

Menge des Plasmas oder Serums.	Kolonie-Zahl. Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,9 ccm akt. Hundeserum	119	74	29	0
0,1 » » » »	111	106	88	1480
0,9 » » » » + 3‰ Fluornatrium	118	46	16	0
0,1 » » » » + » » »	114	91	93	820
0,9 » » 3‰ Hundeplasma	110	14	0	0
0,1 » » » » » »	112	84	51	190
0,9 » inakt. (1 Std. 56°) Hundeserum	715	209	351	∞
0,9 » » (1 » ») » » + 3‰ Fluornatrium	119	181	340	∞
0,9 » » (1 Std. 56°) 3‰ Hundeplasma	109	176	290	∞
0,9 ccm phys. Kochsalzlös. + 3‰ Fluornatrium	110	136	215	1060

Hämolytischer Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm präparierte Meerschweinblutkörperchen. Die Röhrchen werden 2 Stunden bei 38° gehalten.

Art der Blutflüssigkeit	Hämolyse bei Mengen von ccm 0,05	0,025	0,01	0,005
Aktives Hundeserum	vollständige	teilweise	geringe	Spur
» » » + 3‰ Fluornatrium	»	»	»	»
Aktives 3‰ Fluorplasma	»	»	»	»
Physiolog. Kochsalzlösung	Keine Hämolyse.			

Das gleiche Resultat wie die hier angeführten Versuche hatte noch eine Reihe anderer gleichartiger, In der Regel war das Fluorplasma etwas kräftiger bakterizid als das zugehörige Normalserum und auch etwas stärker als letzteres nach erfolgtem Zusatz der entsprechenden Menge Fluornatrium. Dafs der Fluornatrium-Zusatz an sich nicht schon auf das Bakterienwachstum im Plasma und Serum hemmt, geht schon daraus hervor, dafs in dem mit Fluornatrium versetzten inaktiven Serum und in dem inaktivierten Fluorplasma die Keimvermehrung nicht beeinträchtigt ist. Noch deutlicher tritt die Unschädlichkeit

des Fluornatriums für die Typhusbazillen dadurch zutage, daſs selbst in der mit 3 ‰ Fluornatrium versetzten 0,85 % Kochsalzlösung die eingesäten Bazillen keine Abtötung erfahren. Als Ursache der gesteigerten Wirkung, die das Fluorplasma dem Serum gegenüber hat, darf mit Wahrscheinlichkeit der die Bakterizidie des Serums begünstigende Einfluſs des Fluorsalzes angesehen werden.

Nachdem nun gezeigt ist, daſs die auf Grund des negativen Ausfalles der Schmidt'schen Probe als fermentfrei zu bezeichnenden Fluorplasmen die volle hämolytische und bakterizide Wirksamkeit wie die zugehörigen Normalsera haben, fragt es sich, ob wir daraus den sicheren Schluſs auf die Anwesenheit des Alexins im zirkulierenden Blute zu ziehen berechtigt sind. Es könnte ja die Prüfung mit verdünntem Magnesiumsulfatplasma nicht empfindlich und genau genug sein, oder es könnte die von Löwit und Schwarz bereits in Betracht gezogene Eventualität vorliegen, daſs in dem Fluorplasma wohl die Veränderungen, die zur Fibrinfermentbildung führen, unterdrückt seien, nicht aber jene, die zur Entstehung der hämotytischen und bakteriziden Substanzen in demselben Blute Anlaſs geben. Vor allem wären hier die Veränderungen, welche die zelligen Blutelemente bei der extravaskulären Vermischung des Blutes mit der 3 proz. Fluornatriumlösung erleiden könnten, zu berücksichtigen, es wäre denkbar, daſs die Blutzellen, besonders die Leukozyten, hierbei eine Störung ihrer Vitalität erführen, deren Folge die plötzliche Abgabe des Alexins wäre. Der Mühe, diesen Einwand zu widerlegen, sind wir heute überhoben, nachdem Gruber und Futaki festgestellt haben, daſs die nach unseren Angaben gewonnenen plättchenfreien Natriumzitra- und Fluornatriumplasmen des Kaninchens absolut wirkungslos gegenüber den Milzbrandbazillen sind, und daſs die aus den Plasmen unbeschädigt zu erhaltenden Blutplättchen neben den Leukozyten die milzbrandfeindlichen Stoffe liefern. Fehlt daher in einem Blutplasma das sog. Anthrakozidin, so erhellt daraus, daſs bei seiner Darstellung selbst die als überaus vergängliche Gebilde allgemein bekannte Blutplättchen unversehrt geblieben

sind, und diese Konstatierung erlaubt wohl den Schlufs, dafs die in dem Plasma gefundene hämolytische Wirksamkeit und Bakterizidie gegenüber anderen Bazillen nicht erst extravaskulär entstanden sein kann. Dafs wir in dem Nachweis der An- oder Abwesenheit des Anthrakozidins einen besseren Mafsstab als in der Fibrinfermentreaktion dafür haben, ob in einer Blutflüssigkeit extravaskulär Stoffe korpuskulärer Blutelemente übergetreten sind, oder nicht, beweisen, glaube ich, folgende Versuche mit Paraffinplasma. Ehe wir auf diese näher eingehen, müssen wir kurz auf das schwierige Gebiet der Blutgerinnung abschweifen.

So altbekannt es ist, dafs das Blut in den Gefäfsen des lebenden Körpers nicht gerinnt, so dunkel sind immer noch die Gründe hierfür und die Vorgänge bei der Gerinnung. An der fermentativen Natur des Gerinnungsprozesses wird man seit den grundlegenden Arbeiten A. Schmidts ebensowenig zweifeln wie an der von ihm begründeten Anschauung, dafs die Gerinnung in zwei Phasen verläuft, deren erste die Entstehung des Fibrinfermentes und deren zweite die Umwandlung des im Blute zirkulierenden Fibrinogens in Fibrin mit Hilfe des Fibrinfermentes ist. Besonders kompliziert und verschieden gedeutet ist die erste Phase. Nach A. Schmidt [84]) entsteht das Fibrinferment dadurch, dafs das bereits im zirkulierenden Plasma befindliche Prothrombin durch die zymoplastischen Substanzen, die extravaskulär aus den Leukozyten austreten, ohne Beteiligung der Kalksalze zu dem fertigen Ferment aktiviert wird. Diese Theorie wurde für lange Zeit durch die Lehre Pekelharings [85]) und Hamarstens verdrängt, die besagt, dafs das lebende Plasma aufser dem Fibrinogen lediglich die Kalksalze enthält, die eine Vorstufe des Fibrinfermentes aktivieren. Dieses Zymogen, ein Nukleoproteid, wird erst extravaskulär von den geformten Elementen ins Plasma abgegeben. In neuerer Zeit sind getrennt von einander Morawitz [87]) und Fuld [88]) auf Grund ihrer Arbeiten mit Gänse- und Fluorplasmen zur Aufstellung einer Theorie gekommen, die im Prinzip mit der A. Schmidts übereinstimmt, dafs nämlich die Bildung des Fibrinfermentes von

der Einwirkung zweier Substanzen aufeinander abhängt, für die im Gegensatz zu Schmidts Anschauung die Gegenwart von Ca-Salzen notwendig ist. Die eine dieser Fermentvorstufen, welche neben den Kalksalzen sich im zirkulierenden Blut befindet, wird von Morawitz Thrombogen, von Fuld Plasmozym, die andere, welche aus den geformten Elementen der Gewebe und des Blutes erst extravaskulär entsteht, Thrombokinase resp. Cytozym benannt. Lassen wir es dahingestellt, ob eine oder zwei Substanzen bei der Fibrinfermentbildung beteiligt sind, jedenfalls ist ihr Zustandekommen nach der Ansicht sämtlicher Autoren an die extravaskuläre Produktion der einen einzigen oder einer der beiden im Blute fehlenden Vorstufen geknüpft.

Dem gegenüber haben nun bereits Bordet und Gengou[89]) durch ihre interessanten Versuche mit Paraffinplasma wahrscheinlich gemacht, dafs schon im Gefäfssystem Proferment resp. die beiden Fermentvorstufen vorhanden sind. Fängt man das Blut nach der Methode von Freund in paraffinierten Gefäfsen auf, so kann man ein vollständig zellfreies Plasma bekommen. Dieses Plasma bleibt solange flüssig, als es nur mit nicht benetzbaren, paraffinierbaren Gegenständen in Berührung kommt, gerinnt aber sehr rasch, wenn es in nicht paraffinierte Gefäfse gebracht wird. Da dieses Plasma zellfrei ist, kann die Berührung mit der Gefäfswand keinen Zerfall von Zellen herbeiführen. Ferner ist auch ausgeschlossen, dafs die Berührung mit der benetzbaren Fläche etwa die Wirkung des fertigen Fibrinfermentes auf das Fibrinogen auslöst, denn das Paraffinplasma enthält noch gar kein Ferment, sondern nur seine Vorstufen, was die Tatsache beweist, dafs das Paraffinplasma nach Ausfällung der Kalksalze bei Kontakt mit Fremdkörpern nicht mehr gerinnt.

Es war nun interessant, zu sehen, wie das Paraffinplasma sich hinsichtlich des Anthrakozidins verhält. Zu diesem Zwecke wurde Blut in gekühlten paraffinierten Röhrchen unter Beachtung aller oben angegebenen Kautelen aufgefangen, einer lang dauernden fraktionierten Zentrifugierung in paraffinierten

Gefäfsen unterworfen und die gewonnenen Plasmen auf ihre Wirksamkeit Milzbrandbazillen, Typhusbazillen und präparierten Blutkörperchen gegenüber geprüft.

Versuch Nr. 9.

Bei einem grofsen Kaninchen wird in üblicher sorgfältiger Weise das Carotisblut zu Paraffinplasma und Fluorplasma verarbeitet. Nach beendetem Zentrifugieren kommen die Plasmen in nicht paraffinierte Röhrchen; ein Teil des Paraffinplasmas wird, um die Gerinnung zu verhüten, mit 3‰ Fluornatrium versetzt. In der übrigen Menge des Paraffinplasmas bildet sich bei Zimmertemperatur sehr bald ein festes Gerinnsel, das nach seiner Entfernung noch ein zweites und drittesmal in dem ausgeprefsten Plasmaserum auftritt, ehe letzteres definitiv flüssig bleibt. Aus dem Fluorplasma wie aus dem Parraffinplasma werden tadellos erhaltene Plättchen in reichlicher Menge ausgeschleudert.

Bakterizider Versuch.

Inhalt der Röhrchen 0,5 ccm, davon 0,1 ccm Bazillenaufschwemmung, und zwar sind die Typhusbazillen in physiologischer Kochsalzlösung, die Milzbrandbazillen zu ebensolcher mit 10% inaktiviertem Kaninchenserum aufgeschwemmt.

Aussaat mittels grofser Öse von 0,0125 ccm Inhalt.

Art u. Menge des Plasmas resp. Serums.		Kolonie-Zahl.				
	Einsaat	Aussaat	1 Std.	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,4 ccm akt. Normalserum	Milzbrd. Baz.	20	0	0	0	0
0,4 » » 3‰ Fluorplasma	»	35	22	42	sehr viele	∞
0,4 » » Paraffinplasmaserum	» »	29	33	31	s. v.	∞
0,4 » » Paraffinplasma + 3‰ Fluornatrium	» »	33	30	51	s. v.	∞
0,4 » inakt. (65° 1 Std.) Normalserum	» »	35	24	52	s. v.	∞
0,4 » akt. Normalserum	Typh. Baz.	32	30	6	0	0
0,4 » » 3‰ Fluorplasma	» »	29	12	0	0	0
0,4 » » Paraffinplasmaserum	» »	26	21	0	0	0
0,4 » » Paraffinplasma + 3‰ Fluornatrium	» »	30	19	0	0	0
0,4 ccm inakt. (65° 1 Std.) Normalserum	» »	27	30	43	115	10000

Beim hämolytischen Versuch bewiesen alle Plasmen und Sera präparierten Meerschweinblutkörperchen gegenüber die gleiche lösende Kraft.

Überblicken wir die Resultate vorstehenden Versuches, der mit demselben Ergebnis mehrfach wiederholt wurde, so sehen wir vor allem, dafs auch das Paraffinplasma nach und trotz

seiner Gerinnung ebensowenig milzbrandfeindliche Stoffe enthält wie das Paraffinplasma, das durch nachträglichen Fluornatriumzusatz flüssig erhalten wurde, und wie das 3‰ige Fluorplasma. Im Gegensatz hierzu ist im Serum die Vernichtung der Milzbrandbazillen eine so intensive, dafs schon die kurze Frist, die zwischen der Beschickung des Röhrchens und der Aussaat verstrich, genügte, ca. ein Drittel der Keime zu zerstören; wir konstatieren daraus, dafs nicht einmal die vergänglichen Plättchen bei Darstellung der Plasmen in ihren Lebensbedingungen gestört und zur Abgabe ihrer wirksamen Stoffe veranlafst wurden. Und trotzdem diese ausgiebige Fibrinbildung in dem Paraffinplasma und eine fast vollkommen übereinstimmende Alexinwirkung in Serum und allen Plasmaarten. Dies können wir nur so erklären, dafs bereits im zirkulierenden Blutplasma alle zur Gerinnung notwendigen Faktoren in hinreichender Menge enthalten sind. Wird trotzdem im Kreislauf kein Ferment gebildet, so kann dies an der Anwesenheit gerinnungshemmender Körper, sogenannter Antithrombine, an dem Mangel benetzbarer Flächen oder an sonst noch unbekannten Verhältnissen liegen.

Durch die Tatsache, dafs das vollkommen plättchenfreie Plasma gerade in so aufserordentlicher Weise gerinnt, ist der Anschauung Bürkers[90]), der von der fermentativen Bildung des Fibrins absieht und die Möglichkeit der Fibrinbildung aus der Substanz der Plättchen vertritt, der Boden entzogen. Auf Grund unserer letzten Versuche geht es ferner auch nicht mehr an, das Fehlen des Fibrinfermentes als Kriterium für die Entscheidung der Frage, ob eine extravaskuläre Blutflüssigkeit dem strömenden Plasma gleichgestellt werden darf oder nicht, anzusehen. Denn abgesehen davon, dafs in manchen künstlichen Plasmen, z. B. im Oxalat-Pepton-Hirudin-Plasma, trotz Anwesenheit sämtlicher Fermentvorstufen es nicht zur Fibrinfermentbildung kommt, wissen wir jetzt, dafs die Entstehung des Fibrinfermentes aufserhalb der Gefäfse durchaus nicht auf eine extravaskuläre Veränderung der geformten Blutelemente zurück-

geführt werden mufs. So stehen wir auch nicht an, die Beweiskraft unserer Fluorplasmaversuche, soweit sie sich auf den negativen Ausfall der Fermentprobe stützen, als null und nichtig zu erklären; und dies umsomehr, als nach den Untersuchungen von Bordet und Gengou das Fluornatrium dadurch antifermentativ wirkt, dafs es die Kalksalze fällt und der gebildete Fluorkalziumniederschlag in hohem Grade das Fibrinferment (vielmehr das Proferment) und auch das Fibrinogen absorbiert.

Nicht frei von Fibrinferment, sondern frei von Anthrakozidin müssen extravaskuläre Blutflüssigkeiten sein, wenn sie dem zirkulierenden Plasma gleichgestellt werden sollen. Dieser Forderung entsprechen unsere Fluornatrium-, Natriumzitrat- und Paraffinplasmen; ihre bakterizide und hämolytische Wirksamkeit läfst somit keinen Zweifel mehr an der Präexistenz des Alexins im strömenden Blut aufkommen.

Versuche über den Alexingehalt des Vorderkammerwassers.

Mit den vorstehenden Untersuchungen hängen sachlich und zeitlich unsere Versuche über den Alexingehalt des Kammerwassers normaler Kaninchen zusammen. Bekanntlich hat Metschnikoff das Vorkommen gelöster bakterizider Substanzen auch in den zellfreien Körperflüssigkeiten bestritten. Zu dieser Anschauung war er in weiterer Verfolgung seiner Phygozytenlehre und der Annahme, dafs im strömenden Blute das Alexin fehlt, gekommen. Zur Stütze seiner Ansicht zog Metschnikoff unter anderem Beobachtungen heran, die er[91]) und seine Schüler bei Versuchen in der Vorderkammer und am Humor aqueus gemacht hatten. So hatte er in der Vorderkammer gegen Cholera immunisierter Meerschweine so lange ein Zugrundegehen der eingebrachten Choleravibrionen vermifst, als keine Leukozyten eingewandert waren. Bordet[92]) bestätigte diesen Befund und stellte durch Versuche in vitro den gänzlichen Mangel bakterizider Eigenschaften bei dem Humor aqueus fest, auch wenn dieser von hochimmunisierten Tieren stammte. Mesnil[93]) wiederholte Metschnikoffs Versuche mit dem Vibrio Massana

und erzielte das gleiche Ergebnis. In Übereinstimmung mit Bordet fand Levaditi[94]) den normalen und den nach Punktion der Vorderkammer neugebildeten Humor aqueus ebenso frei von Alexin wie das Plasma des zirkulierenden Blutes. Injizierte er jedoch Alexin in Gestalt von aktivem Serum in die Blutbahn, so trat infolge der Anreicherung Alexin aus dem Blutplasma ins Kammerwasser über. Diesen Befunden der französischen Autoren, die ein Fehlen bakterizider Stoffe im Kammerwasser konstatiert haben, widersprechen die Beobachtungen, die in neuerer Zeit Roemer, Wessely, Sweet und Falloise gemacht haben. Allerdings hatte schon Buchner[95]) im Kammerwasser des Hundes und Kaninchens eingesäte Typhusbazillen verschwinden sehen und auch Nuttall[96]), Emmerich und Di Mattei[97]), Marten[98]), Bach[99]) und Rymovicz[100]) kamen, zum Teil wenigstens zu ähnlichen Resultaten. Doch gestatten diese älteren Arbeiten, die teilweise mit Milzbrandbazillen oder mit mehr oder weniger unzulänglichen Methoden durchgeführt wurden, kein sicheres Urteil. Nachdem Roemer[101]) gezeigt hatte, dafs bei der Abrinimmunität auch das Kammerwasser mit einem gewissen Antikörpergehalt beteiligt ist, machte er[102]) und Wessely[103]) den Übertritt der Hämolysine und Agglutinine in das Kammerwasser von Immuntieren zum Gegenstand ausführlicher und interessanter Untersuchungen. Im besonderen wiesen diese Autoren nach, dafs in das normale Kammerwasser der mit Blutzellen vorbehandelten Tiere (Kaninchen) die Hämolysine nicht übergehen, dafs sie jedoch nach Punktion der Vorderkammer und unter dem Einflusse verschiedenartiger — thermischer, chemischer, mechanischer und elektrischer — Reize in reichem Mafse in dem Humor aqueus sich einstellen. Im Gegensatz zu den Hämolysinen sollen die Agglutinine, die schon Widal und Sicard[104] im Humor aqueus der Mehrzahl ihrer mit Typhusbazillen immunisierten Kaninchen nachweisen konnten, bei aktiver Immunisierung schon im normalen Kammerwasser zu finden sein. E. v. Dungern[105]), der Kaninchen mit Majaplasma vorbehandelte, konnte die in ihrem Serum reichlich vorhandenen Präzipitine im Kammerwasser nicht feststellen.

In Anlehnung an Levaditis Versuche prüfte Sweet[106]) das Kammerwasser normaler Kaninchen auf seinen Gehalt an hämolytischem Alexin und stellte fest, dafs der normale Humor aqueus kein hämolytisches Alexin enthält, dafs jedoch nach der Punktion der Vorderkammer die sich in ihr ansammelnde Flüssigkeit kräftig, wenn auch in geringerem Grade wie das Serum, präparierte Rinderblutkörperchen löst. Sweet schliefst daraus auf die Anwesenheit des Alexins im zirkulierenden Blutplasma, aus dem jenes infolge der Parazentese der Vorderkammer durch die Gefäfswand filtrieren kann, während es unter normalen Verhältnissen zurückgehalten wird. Im gleichen Sinne äufsert sich Falloise[107]), in seiner »zweiten Mitteilung über die Existenz des hämolytischen Alexins im Blutplasma«. In letzterer Zeit hat A. Leber[108]) über die bakterizide Wirkung noımalen Kammerwassers einige Versuche angestellt und ist dabei zu Ergebnissen, die mit den Angaben Levaditis übereinstimmen, gekommen. Doch möchte er den Untersuchungen nicht die allgemeine Geltung zuerkennen, die ihnen Levaditi gegeben hat, da er unter gewissen Umständen beim Humor aqueus des Kaninchens »exquisite« Bakteriolyse bekommen haben will.

War durch die angeführten Untersuchungen die Beweiskraft der Arbeiten Metschnikoffs und seiner Schüler bereits wesentlich eingeschränkt, so fehlten doch noch genauere Versuche darüber, wie sich hinsichtlich des bakteriziden Alexins das Kammerwasser normaler Tiere verhält und ob wirklich eine Differenz zwischen hämolytischem und bakterizidem Alexin, wie sie mit Rücksicht auf die Versuche von Bordet und Levaditi vorzuliegen schien, besteht.

Unsere Versuche wurden mit einer Ausnahme (Hund) nur an Kaninchen angestellt und erstreckten sich auf die Prüfung der hämolytischen, bakteriziden und opsonisierenden Funktion des normalen und des nach der Parazentese der Vorderkammer regenerierten Humor aqueus in vitro. Auch wurde versucht, das zweite Kammerwasser fibrinferment- resp. anthrakozidinfrei zu bekommen. Bei den geringen Mengen Materials, die von einem Auge zu erhalten sind, wurde zur Durchführung der Ver-

suche meistens das Kammerwasser von einer Anzahl Tiere gewonnen und das Gemisch derselben verwendet. Stets mufs man sich davon überzeugen, dafs nur gesunde Augen dazu benutzt werden. Am leicht aus der Orbita luxierten Auge, das mit 3prozentiger Kokainlösung vorher anästhesiert war, wurde mittels der mit einer gut stechenden Hohlnadel versehenen Pravazspritze vorsichtig je 0,15—0,2 ccm Kammerwasser aspiriert; nach Verlauf von 20 Minuten bis 1 Stunde wurde auf gleiche Weise der inzwischen neuabgesonderter Humor aqueus entnommen. Meist wurde den Tieren auch etwas Blut entzogen, um ihr Serum vergleichsweise mitzuprüfen.

Zunächst konnten wir die Angaben von Sweet, Wessely und Roemer bestätigen, dafs der regenierte Humor aqueus ein Alexin enthält, das präparierte (Hühner-) Blutkörperchen zu lösen vermag, während dem normalen diese Fähigkeit abgeht.

Versuch Nr. 10.

Aus den acht Augen von vier normalen Kaninchen wird mit der Pravazspritze das normale und das nach einer Stunde regenerierte Kammerwasser entnommen. Letzteres gerinnt bald nach der Entnahme und stellt nach Beseitigung des Fibrins eine helle, klare Flüssigkeit dar.

Hämolytischer Versuch.

In gewöhnlicher Weise wird frisch entnommenes Hühnerblut defibriniert, der Bodensatz von 20 ccm einer 5%igen Blutkörperchenaufschwemmung dreimal mit physiologischer Na Cl-Lösung gewaschen und mit einem Gemisch, das aus 0,3 ccm inaktivem Hühnerblutantiserum vom Kaninchen und 1,7 ccm physiologischer Kochsalzlösung besteht, eine Stunde bei Zimmertemperatur unter öfterem Umschütteln gehalten. Von dieser Blutkörperchenemulsion wird den Röhrchen je 0,1 ccm zugesetzt. Das Gesamtvolumen des Röhrcheninhaltes wird mit 0,85%iger Kochsalzlösung als Ergänzungsflüssigkeit auf 0,5 ccm gebracht.

Art und Menge des Kammerwassers und Serums.	Hämolyse nach 2 Std. 38°.
0,4 ccm akt. I. Kammerwasser	keine
0,2 » » II. »	vollständig
0,1 » » II. »	»
0,05 » » II. »	fast vollständig
0,01 » » II. »	gering

Art und Menge des Kammerwassers und Serums.	Hämolyse nach 2 Std. 38°.
0,2 ccm inakt. (56° 1 Std.) Kammerwasser	keine
0,1 » akt. Kaninchenserum	vollständig
0,05 » » » »	fast vollständig
0,01 » » » »	gering
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) Kaninchenserum	keine
0,4 » 0,85% Kochsalzlösung	»

Bemerkenswert ist die kräftige hämolytische Wirkung des neugebildeten Kammerwassers, die durchgehends der des Serums verhältnismäfsig weniger nachstand, als es bei der Bakterizidie der Fall ist.

Bakterizider Versuch.

Bei den Schwierigkeiten sterilen Arbeitens am Auge ist jedes Kammerwasser vor seiner Verwendung im bakteriziden Versuch auf seine Keimfreiheit zu prüfen; in unseren Versuchen, in denen meist der Humor aqueus verschiedener Augen und Kaninchen zusammen verbraucht wurde, mischten wir erst die entnommenen Flüssigkeiten, nachdem im Vorversuch jede Verunreinigung ausgeschlossen war.

Inhalt der Röhrchen je 1,0 ccm, davon 0,2 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in 0,85% Kochsalzlösung. Ergänzungsflüssigkeit ist physiologische Kochsalzlösung.

Aussaat je 0,1 ccm.

Art und Menge des Kammerwassers resp. Serums.	Kolonie-Zahl.			
	Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,5 ccm akt. I Kammerwasser	334	766	5490	∞
0,5 » » II. » »	328	132	48	0
0,5 » » Kaninchenserum	317	0	0	0
0,1 » » » »	329	156	29	0
0,5 » inakt. (56° 1 Std.) Kan.-Ser.	318	391	960	∞

Phagozytose Versuch.

Kaninchen-Leukozyten 22 Stunden nach intraperitonealer Bouillon-Injektion gewonnen, werden dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Der Leukozytenbodensatz wird in der gleichen Menge 0,85% Kochsalzlösung gleichmäfsig aufgeschwemmt und von dieser dichten Leukozyten-Emulsion wird je 0,05 ccm dem Röhrchen nach ihrer weiteren Vorbereitung zugesetzt; aufserdem erhält jedes 1/5 Öse einer Typhusagarkultur in 0,05 ccm physiologische Kochsalzlösung. Von den zu prüfenden Flüssigkeiten werden je 0,2 ccm verwendet. Die fertigen Proben kommen in das Wasserbad von 38° und in kürzeren Intervallen (sofort, nach 2, 5, 10, 20, 30, Minuten, 1 Stunde, 2 und 3 Stunden) aus den Röhrchen mit der Platinöse Deckglasausstrichpräparate angefertigt, die in absolutem Alkohol oder bei

125° $^1/_2$ Stunde fixiert und meistens nach Giemsa gefärbt werden. Bei Entnahme des Ausstrichmateriales wurde darauf geachtet, möglichst an der Wand des Röhrchens haftende Leukozyten zu erhalten, da sich hier mit Vorliebe die frefstüchtigen ansammeln. Einige Übung verlangt das Ausstreichen auf dem Deckglas, da es nicht ganz leicht ist, einen gleichmäfsigen und dünnen Ausstrich zu machen ohne die Leukozyten zu drücken und dadurch zum Platzen zu bringen. Mit folgenden vier Röhrchen wurde im vorliegenden Falle der Phagozytoseversuch durchgeführt; aufser der Typhus- und Leukozytenaufschwemmung enthielt

Röhrchen Nr. I. 0,2 ccm akt. I. Kammerwasser,
Röhrchen Nr. II. 0,2 ccm akt. II. Kammerwasser,
Röhrchen Nr. III. 0,2 ccm akt. Kaninchenserum,
Röhrchen Nr. IV. 0,2 ccm inakt. Kaninchenserum.

Schon nach 5 Minuten hatten in Röhrchen II und III die Leukozyten mit einer deutlichen Frefstätigkeit begonnen, die sich im Verlauf des Versuches weiterentwickelte, so dafs schon nach 20 Minuten zahlreiche vollgefressene Leukozyten zu beobachten waren. Auch zeigten nach dieser Zeit bereits ein Teil der phagozytierten Typhusbazillen Veränderungen infolge Verdauung: Kügelchenbildung, schlechtere Färbbarkeit. Während in diesen beiden Röhrchen die Phygozytose und intrazelluläre Verdauung in fast gleichem Mafse so rasch fortschritt, dafs nach einer Stunde fast alle Leukozyten gefressen hatten und nur wenige Bazillen mehr vorhanden waren, war in den Röhrchen 1 und 4 nach 1 Stunde nur ganz vereinzelte Phagozytose zu sehen, die in den 3 Stunden, auf die der Versuch ausgedehnt wurde, überhaupt keinen gröfseren Umfang annahm.

Versuch Nr. 11.

Um ein Urteil über die Zeit zu bekommen, die bis zum Verschwinden des Alexins aus dem zweiten Kammerwasser verstreicht, wurden bei fünf Kaninchen desselben Wurfes $^1/_2$, 1, 2, 6 und 20 Stunden nach der Punktion der Vorderkammer der regenerierte Humor aqueus gewonnen und auf seine bakterizide Wirksamkeit geprüft. Die Tiere waren belgisch-französischer Kreuzung und zeichneten sich durch besonders grofse Augen mit tiefen Vorderkammern aus. Die Kammerwassermengen der beiden Augen desselben Tieres wurden zusammengemischt verwendet. Das Serum wurde durch Defibrinieren des aus der Ohrvene des betreffenden Tieres entzogenen Blutes gewonnen. Der Inhalt der Röhrchen betrug 0,4 ccm, davon 0,1 ccm

Typhusbazillenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung. Die Menge des zu prüfenden Kammerwassers und Serums betrug überall je 0,3 ccm.

Aussaat mit grofser 0,0125 ccm enthaltender Öse.

Bakterizider Versuch.

Art des Kammerwassers resp. Serums.	Kolonie-Zahl. Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
Serum v. Kaninchen 1.	26	6	0	0
I. Kammerwasser v. Kaninchen 1.	25	34	∞	reichl.
II. » » » » » 1.	28	12	0	0
1/2 Std. n. d. Punktion				
Serum von Kaninchen 2.	24	9	0	0
I. Kammerwasser v. » » 2.	20	38	52	reichl.
II. » » » » » 2.	27	20	0	0
2 Std. n. d. Punktion				
Serum von Kaninchen 3.	27	5	0	0
I. Kammerwasser » » » 3.	29	43	84	reichl.
II. » » » » » 3.	31	28	12	180
4 Std. n. d. Punktion				
Serum von Kaninchen 4.	31	10	0	0
I. Kammerwasser » » » 4.	33	38	60	reichl.
II. » » » » » 4.	28	28	40	reichl.
6 Std. n. d. Punktion				
Serum von Kaninchen 5.	30	2	0	0
I. Kammerwasser » » » 5.	26	40	82	reichl.
II. » » » » » 5.	27	36	80	reichl.
22 Std. n. d. Punktion				

Schon nach 6 Stunden also hat sich das Alexin soweit vermindert, dafs nur mehr eine Wachstumshemmung der eingesäten Bazillen im regenerierten Humor aqueus zu konstatieren ist.

Versuch Nr. 12.

Mit Rücksicht auf die Arbeiten der französischen Autoren, die vorwiegend mit Vibrionen (Cholera und Massaua) experimentiert haben, wurde in folgendem Versuch Vibrio Finkler-Prior als Testobjekt gegenüber dem bakteriziden Vermögen des Kammerwassers verwendet.

Bakterizider Versuch.

Inhalt des Röhrchen 1,0 ccm; davon 0,1 ccm Aufschwemmung des Vibrio Finkler in physiologischer Na Cl-Lösung.

Auffüllungsflüssigkeit ebenfalls physiologischer Na Cl Lösung.

Aussaat je 0,1 ccm.

Art des Kammerwassers Kaninchen	Kolonie-Zahl. Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,5 ccm akt. I. Kammerwasser	141	1024	∞	∞
0,5 » » II. Kaninchenkammerwasser	148	27	3	∞

Von denselben Erwägungen geleitet, die unsere Untersuchungen mit Fluorplasma veranlafst hatten, versuchten wir auch das zweite Kammerwasser fibrinfermentfrei zu erhalten. Zu diesem Zwecke wurde die Punktion mit einer Pravazspritze, deren Hohlnadel paraffiniert und in der vor jeder Kammerwasserentnahme 0,18 ccm eisgekühlter 6 proz. Fluornatriumlösung aufgesaugt war, vorgenommen. Nach Aspiration von je 0,18 ccm Humor aqueus wurde jedesmal die Spritze in ein paraffiniertes Röhrchen entleert. Auf diese etwas komplizierte Weise wurde in dem folgenden Versuche bei 8 normalen Kaninchen das regenerierte Kammerwasser gewonnen, doch gelang es uns, ebensowenig wie bei früheren derartigen Versuchen, eines zu erhalten, das, mit verdünntem Magnesiumsulfatplasma geprüft, sich fibrinfermentfrei erwiesen hätte. Einer Gerinnung des mit Fluornatrium versetzten Humor aqueus in verdünntem und unverdünntem Zustande war vorgebeugt, und die Fibrinbildung konnte bei der A. Schmidtschen Probe auf 5 Stunden verzögert werden. Auch sei bemerkt, dafs wir die verarbeiteten drei Kammerwasser stets für Milzbrandbazillen bakterizid gefunden haben.

Hämolytischer Versuch.

Kammerwasser bei der Entnahme āā mit 6‰ Fluornatriumlösung verdünnt. Die Röhrchen enthalten je 0,5 ccm; davon 0,1 ccm präparierter Rinderblutkörperchenbrei.

Art und Menge des Kammerwassers.	Hämolyse nach 12 Std. 38°.
0,4 ccm akt. I. Kammerwasser	keine
0,1 » » II. » »	vollständig
0,05 » » II. » »	teilweise
0,025 » » II. » »	Spur
0,01 » » II. » »	keine
0,4 » inakt. (56° 1 Std.) Kammerwasser	keine

Bakterizider Versuch.

Kammerwasser mit 6‰ Fluornatrium āā verdünnt.

Inhalt der Röhrchen 1,0 ccm; davon 0,1 ccm Typhusbazillenaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, im letzten Röhrchen die gleiche Quantität Milzbrandbazillenaufschwemmung wieder in physiologischer Kochsalzlösung mit 5% inakt. (56° 1 Std.) Kaninchenserum. Ergänzungsflüssigkeit 0,85%ige Na Cl-Lösung.

Aussaat je 0,1 ccm.

Art und Menge des Kammerwassers.	Kolonie-Zahl. Aussaat	3 Std.	7 Std.	24 Std.
0,5 ccm akt. I. Kammerwasser	98	187	2360	∞
0,5 › › II. › ›	105	0	0	0
0,25 › › II. › ›	111	31	1	88
0,1 › › I. › ›	100	36	16	∞
0,5 › inakt. (56° 1 Std.) II. Kammerwasser	99	210	240	∞
0,5 › akt. II. Kammerwasser	123	0	0	0

Hinsichtlich der Phagozytose war wieder ein grofser Unterschied zwischen dem ersten und zweiten Kammerwasser zu beobachten. Während in diesem schon nach 10 Min. zahlreiche Keime in Leukozyten eingeschlossen waren, fanden sich in jenen selbst nach 2 Stunden nur vereinzelte Zellen mit Typhusbazillen.

Aus unseren Versuchen ergibt sich in Übereinstimmung mit Roemer, Wessely und Sweet, dafs normalerweise das Alexin innerhalb der Gefäfse zurückbehalten wird und im Kammerwasser fehlt. Ferner haben wir gezeigt, dafs es nach der Parazentese der Vorderkammer im regenerierten Humor aqueus nicht nur mit seiner hämolytischen, sondern auch mit seiner bakteriziden und opsonisierenden Wirksamkeit auftritt. Diese auch für die Physiologie des Auges interessanten Tatsachen erklären sich ungezwungen aus den bei der Absonderung des Kammerwassers obwaltenden Verhältnissen.

In geradezu bewunderungswerter Weise ist die Zusammensetzung des Humor aqueus nach den ihm zukommenden Leistungen geregelt. Er ist die Nährflüssigkeit der Linse und Hornhaut, die wegen ihrer fast ausschliefslich statisch-optischen Funktion einen geringen Stoffumsatz betätigen; aufserdem liegt es im Interesse eines möglichst gleichmäfsigen und ungestörten Durchtrittes der Lichtstrahlen, dafs nur ein Minimum von organischen Stoffen in der Augenflüssigkeit gelöst ist. Es nimmt uns daher nicht wunder, dafs gegenüber der Gesamtmenge der Eiweifskörper des Blutes, die sich auf 7% beläuft, der Eiweifsgehalt des Kammerwassers nur etwa 1,50—1,40% beträgt. Entsprechend dieser ausgiebigen Eiweifsretention wird auch das Alexin im Blute zurückgehalten. Wird jedoch durch Punktion

der Vorderkammer eine plötzliche intraokulare Druckentlastung und Erweiterung der Iris- und Ziliargefäſse herbeigeführt, dann erfolgt gleichzeitig mit einer bedeutenden Ausscheidung von Eiweiſs und Fibringeneratoren der Durchtritt des Alexins. Dieser sistiert, wenn die Vorderkammer sich wieder gefüllt hat und der intraokulare Druck sowie die Gefäſsweite zur Norm zurückgekehrt sind, und allmählich verschwindet aus dem Kammerwasser das Alexin. Sein Fehlen im normalen und sein Vorhandensein im neugebildeten Humor aqueus dürfte somit hinlänglich durch die Eigenart des Transsudationsvorganges bei geschlossenem und eröffnetem Augapfel erklärt sein. Mit gutem Recht kann man daher den Alexingehalt des zweiten Kammerwassers als Beweis für die Anwesenheit freien Alexins im strömenden Blut gelten lassen.

Dafür sprechen noch weitere Momente, die sich bei den Versuchen ergeben haben. Die Wirksamkeit des zweiten Kammerwassers ist schwächer als die des Blutserums. Bei der Geschwindigkeit, mit der die Regeneration des Humor aqueus erfolgt, ist den Leukozyten Zeit zu einem ausgiebigen Durchtreten durch die Gefäſswand kaum gegeben, wie denn auch nie Blutkörperchen aus den gesammelten Kammerwassermengen ausgeschleudert wurden. Daſs allerdings Blutplättchen nach der Punktion die Gefäſswand passieren, beweisen die milzbrandfeindlichen Stoffe, die im zweiten Kammerwasser nie vermiſst wurden. Ihre Zahl braucht bei der enormen Wirksamkeit des Plättchenanthrakozidins freilich nicht groſs zu sein, und in der Tat gelang es uns, in besonderen Versuchen Gebilde aus dem regenerierten Kammerwasser auszuschleudern, die wir als Plättchen ansprechen zu dürfen glaubten. Wir erreichten dies, indem wir nach Punktion der Vorderkammer in diese ca. 0,1 ccm 1 proz. Natriumzitratlösung einspritzten, dadurch der Fibrinbildung vorbeugten und nach 5—10 Minuten den mit Zitratlösung vermischten neugebildeten Humor aqueus aspirierten und zentrifugierten.

Während wir mit der ausführlichen Niederschrift dieser Arbeit beschäftigt waren, ist eine Veröffentlichung von M. zur

Nedden*) erschienen, die das Vorkommen bakterizider Substanzen im Auge zum Gegenstand hat. Zur Nedden, der mit Dysenteriebazillen experimentierte, kommt zu denselben Resultaten hinsichtlich der bakteriziden Stoffe des Kammerwassers wie wir und bringt eine Reihe damit zusammenhängender interessanter und mehr vom praktisch-ophthalmologischen Standpunkte aus wertvoller Befunde.

Fassen wir kurz noch einmal die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zusammen, so dürfte die Frage der Präexistenz des Alexins im strömenden Blute unserer Überzeugung nach als im positiven Sinne gelöst zu erachten sein. Eine extravaskuläre Bildung der im Serum wirksamen Stoffe kann, nachdem die verschiedensten Modifikationen bei der Gewinnung keinen Einfluſs auf die hämolytische und bakterizide Kraft der Sera und Plasmen gezeigt haben, füglich ausgeschlossen werden. Entscheidend für unsere Auffassung ist vor allem der Nachweis, daſs auch die plättchen- oder vielmehr anthrakozidinfreien Blutflüssigkeiten in ihrer Wirksamkeit mit den entsprechenden Seris völlig übereinstimmen.

Als wichtige Stütze darf dann auch der Alexingehalt des regenerierten Kammerwassers, das als zellfreies Bluttranssudat sich charakterisiert, herangezogen werden.

Eine nicht unwillkommene Bereicherung der Methodik dürfte das von uns benutzte Verfahren der Plättchendarstellung sein.

Mit der Annahme, daſs die Fibrinfermentvorstufen in gewisser Menge im Blutplasma des Kaninchens gelöst sind, setzen wir uns bewuſsterweise in Widerspruch mit der über die Fibrinermentbildung herrschenden Meinung; doch glaubten wir unseren diesbezüglichen Versuchen keine andere Deutung geben zu können und hoffen, daſs unsere Beobachtungen von berufener Seite als Anlaſs zu weiteren Untersuchungen in dieser Richtung benutzt werden.

*) M. zur Nedden, von Graefes Archiv für Ophthalmologie 1907. Bd. 65, Heft 2.

Literaturverzeichnis.

1. v. Fodor, Deutsch. med. Wochenschr. 1896 p. 617 u. 1887 p. 745. — Derselbe, Arch. f. Hygiene 1886 Bd. 4. p. 129.
2. Flügge, Arch. f. Hygiene 1886 Bd. 4. p. 208.
3. Nuttall, Arch. f. Hygiene 1886 Bd. 4. p. 353.
4. Buchner, Zentralbl. f. Bakteriologie 1899, Bd. 5 u. 6. — Derselbe, Münch. med. Wochenschr. 1897, Nr. 47.
5. Gruber und Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 6.
6. Lubarsch, Zentralbl. f. Bakteriologie, I. Abt., 1889, Bd. 6.
7. Buchner, Arch. f. Hygiene 1891, Bd. 10.
8. Bail und Petterson, Zentralbl. f. Bakteriologie, I. Abt., 1903, Bd. 34.
9. Gruber und Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 6. — Dieselben, Deutsche med. Wochenschr. 1907, Nr. 39.
10. Löwit, Zentralbl. f. Bakteriologie, I. Abt., 1903, Bd. 34. — Derselbe, Sitzungsber. d. K. Akademie d. Wissenschaften i. Wien, Bd. CXIII. Okt. 1904.
11. Levaditi, Annal. de l'Instit. Pasteur 1901, Bd. XV.
12. Metschnikoff, Annal. de l'Instit. Pasteur 1895 u. 1896. Bd. IX resp. X. — Derselbe, Immunität b. Infektionskrankheiten, Jena 1903. — Derselbe, Die Lehre von d. Phagozyten u. deren experimentelle Grundlagen, Handbuch v. Kolle u. Wassermann, Bd. IV.
13. Bordet, Annal. de l'Instit. Pasteur, 1895 u. 1896, Bd. IX resp. X.
14. Issaeff, Zeitschr. f. Hygiene 1894, Bd. 16.
15. Mesnil, Annal. de l'Instit. Pasteur 1896, Bd. X u. 1898, Bd. XII.
16. Pierallini, Annal. de l'Instit. Pasteur 1897, Bd. XI.
17. Salimbeni, Annal. de l'Instit. Pasteur 1898, Bd. XII.
18. Cantacuzène, Annal. de l'Instit. Pasteur 1898, Bd. XII.
19. Gruber und Durham, Münch. med. Wochenschr. 1896. — Dieselben, Wiener med. Wochenschr. 1896, Nr. 11 u. 12.
20. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hygiene 1894, Bd. XVIII. 1895, Bd. XIX u. XX. — Derselbe, Deutsche med. Wochenschr. 1896, Nr. 7 u. 8.
21. Pfeiffer und Kolle, Zeitschr. f. Hygiene 1896, Bd. 21.
22. Radziewsky, Zeitschr. f. Hygiene 1901, Bd. 37.
23. Wolff, Berliner klin. Wochenschr. 1903, Nr. 17—20.
24. Abel, Zentralbl. f. Bakteriologie 1897, Bd. 20. p. 761.

25. Ascher, Zentralbl. f. Bakteriologie 1902, Bd. 32.
26. Moxter, Zentralbl. f. Bakteriologie 1899, Bd. 26. p. 344.
— Derselbe, Deutsche med. Wochenschr. 1899, Nr. 42. p. 687.
27. Rehns, Compt. rend. de la Soc. de Biolog. 1901, p. 333.
28. Ascoli, Deutsche med. Wochenschr. 1902, Nr. 41.
29. Sawtschenko, Annal. de l'Instit. Pasteur 1902, Bd. XVI.
30. Metschnikoff, Annal. de l'Instit. Pasteur 1899, Bd. XIII.
31. Gruber, Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 49.
32. Levaditi, Annal. de l'Instit. Pasteur 1902, Bd. XVI.
33. Ruzička, Bericht der Böhm. Akad. d. Wissenschaft 1903.
34. Gruber, Compt. rend. d. XIII. Congrès internat. d'Hygiene, Bruxelles 1903, T. II.
35. Bellei, Münch. med. Wochenschr. 1904, p. 55.
36. Nissen, Zeitschr. f. Hygiene 1889, Bd. VI.
37. Buchner, Arch. f. Hygiene 1890, Bd. X.
38. Schneider, Arch. f. Hygiene 1897, Bd. XXVIII.
39. Bastin, La Cellule 1892, Bd. VIII.
40. Denys und Kaisin, La Cellule 1893, Bd. XIX.
41. v. Szekely und Szana, Zentralbl. f. Bakteriologie 1892, Bd. XII.
42. Lubarsch, Untersuchungen über d. Ursachen d. angeborenen u. erworbenen Immunität, Berlin 1891.
43. Rosatzin, 1899, Referat, Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. XXV. T. 268.
44. Bŏnaduce, Zieglers Beiträge 1893, Bd. XII.
45. Denys und Havet, Le Cellule, 1894, Bd. X.
46. Ostrianine, Annal. de l'Instit. Pasteur 1901, Bd. XV.
47. Conradi, Zeitschr. f. Hygiene 1900, Bd. 34.
48. Wilde, Zeitschr. f. Hygiene, 1901, Bd. 37.
49. Spangaro und Mioni, Zentralbl. f. Bakteriologie, 1904, Bd. 36. Nr. 1.
50. Bail, Arch. f. Hygiene, 1899, Bd. 35.
51. Schütze und Scheller, Zeitschr. f. Hygiene, 1901, Bd. 36.
52. Wilde, Über die Beeinflussung der Alexinwirkung durch Absorption. Habilitationsschrift, München, 1902.
53. Levaditi, Annal. de l'Instit. Pasteur, 1901, Bd. XV.
54. v. Dungern, Münch. med. Wochenschr., 1900, Nr. 20.
55. Trommsdorff, Habilitationsschrift, München 1906.
56. Simnitzky, Münch. med. Wochenschr., 1903, Nr. 50.
57. Sachs, Arch. f. Physiologie, 1903, p. 494.
58. Wassermann, Zeitschr. f. Hygiene, 1901, Bd. 37.
59. Besredka, Annal. de l'Instit. Pasteur, 1901, Bd. XV.
60. Nissen, Zeitschr. f. Hygiene, 1889, Bd. VI. p. 500.
61. Buchner, Zentralbl. f. Bakteriologie, 1889, Bd. V. p. 817.
— Derselbe, ebenda, 1899, Bd. VI. p. 1.
— Derselbe, Arch. f. Hygiene, 1890, Bd. X. p. 84.
62. Hahn, Arch. f. Hygiene, 1895, Bd. XXII. p. 36.
63. Gengou, Annal. de l'Instit. Pasteur, 1901, Bd. 15. p. 232.
64. Petterson, Arch. f. Hygiene, 1902, Bd. 43. p. 49.

65. Doemeny, Wiener klin. Wochenschr., 1902, Nr. 40.
66. Bellei, Münch. med. Wochenschr., 1904, p. 55.
67. Hewlett, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm., 1903, Bd. 49. p. 307.
68. Pfeiffer, ebenda, 1904, Bd. 50. p. 158.
69. Falloise, Bullet de l'Akad. d. Sciences de Belg., 1903. p. 521—596.
— Derselbe, ebenda, 1905, Nr. 5.
70. Lambotte, Zentralbl. f. Bakteriologie, 1903, Bd. 34. p. 453.
71. Herman, Bull. de l'Akad. d. Sciences de Belg., 1904.
72. Mioni, Compt. rend. de la Soc. de Biolog., 1903, p. 1636.
73. Walker, Zentralbl. f. Bakteriologie, 1903, Bd. 33. p. 297.
74. Löwit und Schwarz, Zeitschr. f. Heilkunde, 1903, Heft VIII.
75. Schneider, Sitzungsbericht d. Gesellschaft f. Morphol. u. Physiologie München, 1906.
76. Bayon, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 45. p. 104.
77. Arthus, Compt. rend. de la Soc. de Biolog., 1903, 55, 32 p. 1350.
78. Dastre, ebenda, p. 1340.
79. Stassano, ebenda, p. 1354.
80. Rüchel, Inaugural-Dissertation. Greifswald, 1903.
81. Rüchel und Spitta, Arch. f. experim. Patholog. u. Pharm., 1903, Bd. 49.
82. Hankin, Zentralbl. f. Bakteriologie, 1892—1893, Bd. XII u. XIV.
83. Arthus, Journ. de Physiol. et Patholog. génér., 1901. p. 887.
84. A. Schmidt, Pflügers Arch. f. Physiologie. Bd. XI.
— Derselbe, Zur Blutlehre, Leipzig, 1892. p. 887.
85. Pekelharing, Zentralbl. f. Physiologie, 1895, Bd. 9. p. 102.
86. Hammarsten, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XXII. p. 345.
87. Morawitz, Hofmeisters Beiträge. Bd. IV. p. 381.
— Derselbe, Deutsch. Arch. f. klin. Medizin, Bd. 79, Heft 1 u. 2.
88. Fuld, Zentralbl. f. Physiologie, Bd. XVII. p. 529.
89. Bordet und Gengou, Annal. de l'Instit. Pasteur, 1901, Bd. XV.
90. Bürker, Münch. med. Wochenschr., 1903.
— Derselbe, Pflügers Archiv, 1904, Bd. 102. p. 36.
91. Metschnikoff, Annal. de l'Instit. Pasteur, 1895, Bd. IX. p. 454.
92. Bordet, ebenda, 1895, Bd. IX. p. 502.
93. Mesnil, ebenda, 1896, Bd. X. p. 379.
94. Levaditi, ebenda, 1901, Bd. XV. p. 924.
95. Buchner, Arch. f. Hygiene, 1890, Bd. X.
96. Nuttall, Zeitschr. f. Hygiene, 1888, Bd. IV. p. 353.
97. Emmerich und Di Mattei, Fortschr. d. Medizin, 1888, Nr. 19.
98. Marthen, Beiträge z. Augenheilkunde, 1893, Bd. XII.
99. Bach, v. Graefes Arch. f. Ophthalmologie, 1894, Bd. XL.
100. Rymowiez, Postop. okul. 1904. Nr. 1 u. 2. Refer. im Jahresbericht f. Ophthalmologie.
101. Roemer, v. Graefes Arch. f. Ophthalmologie, 1901, Bd. 52. p. 72.
102. Derselbe, ebenda, 1903, Bd. 54. p. 439.

103. Wessely, Klin. Mon. Bl. f. Augenheilk. 1902. Bd. 40. p. 1902.
— Derselbe, Münch. med. Wochenschr., 1903, Nr. 24.
— Derselbe, Deutsche med. Wochenschr., 1903, Nr. 7 u. 8.
104. Widal und Sicard, Annal. de l'Instit. Pasteur, 1897, p. 353.
105. v. Dungern, Die Antikörper. Jena, 1903.
106. Sweet, Zentralbl. f. Bakteriologie, 1903. Bd. 33. p. 208.
107. Falloise, Bullet. de l'Akadem. roy. Belg., 1905, Nr. 5.
108. A. Leber, Arch. f. Ophthalmologie, 1906, Bd. 64. p. 413.

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O.Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIREKTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

FÜNFUNDSECHZIGSTER BAND. 4. HEFT.



MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1908.

Inhalt.

In dem nächsten Hefte folgen:

Theorie der Ernährung nach Vollendung des Wachstums. Von Max Rubner.

Ernährungsvorgänge beim Wachstum des Kindes. Von Max Rubner.

Das Wachstumsproblem und die Lebensdauer des Menschen und einiger Säugetiere vom energetischen Standpunkt aus betrachtet. Von Max Rubner.

Einsendungen beliebe man an ***Geheimrat Professor Dr. Rubner, Berlin N. 4, Hessischestr. 3–4,*** *zu richten.*







UNIVERSITY OF CHICAGO
63 377 333